Zur Untersuchung

von

pathogenen Organismen

vom

Regierungsrath Dr. **Robert Koch.**

Separat-Abdruck

aus den

Mittheilungen des Kaiserlichen Gesundheits-Amtes.

Band I.


KING
LONDON



Zur Untersuchung
von
pathogenen Organismen

vom Regierungsrath Dr. **Robert Koch.**

Einleitung. Von den Fortschritten in der Kenntniss der pathogenen Organismen hat die Hygiene bis jetzt verhältnissmässig noch wenig Nutzen ziehen können. Diese Erscheinung hat ihren Grund darin, dass die grosse Mehrzahl der Fragen, welche für die Hygiene bezüglich der pathogenen Mikroorganismen in Betracht kommen, sich nur an der Hand von sicheren Methoden zur Trennung der verschiedenen Arten dieser Organismen lösen lassen, denn es ist der Hygiene beispielsweise durchaus nicht allein darum zu thun, zu erfahren, ob in diesem oder jenem Boden oder Trinkwasser überhaupt Pilze, Bacterien und andere niedere Organismen vorhanden, sondern ob speciell unter denselben solche, welche Krankheiten bewirken können, enthalten sind. Und wenn es gelungen ist, das Vorhandensein eines notorisch schädlichen oder nur verdächtigen Organismus nachzuweisen, dann handelt es sich ferner darum, denselben getrennt von anderen, welche störend und verwirrend auf die Beobachtung einwirken müssen, in allen seinen Verhältnissen zu studiren, seine Lebensbedingungen, seine Entwickelungsgeschichte, Alles, was ihm förderlich oder hinderlich ist, zu erforschen. Diese Kenntnisse sind aber nur mit Hülfe von fortlaufenden Culturen der einzelnen Arten, von sogenannten Reinculturen, zu gewinnen, für welche es bis jetzt keine, nach jeder Richtung hin anwendbare und zuverlässige Methoden giebt. Diese Lücke auszufüllen, habe ich mich vielfach bemüht und bin schliesslich zu Resultaten gekommen, die gewiss noch vielfacher Verbesserung fähig und bedürftig sind, aber auch schon in ihrer jetzigen Gestalt sich bei den im Gesundheitsamte ausgeführten Untersuchungen über Infectionskrankheiten und Desinfection durchaus bewährt haben. Theils um diese einer sehr vielseitigen Verwendung und Ausnutzung fähigen Verfahren weiteren Kreisen zugänglich zu machen, theils zum leichteren Verständniss der in diesen Blättern zu veröffentlichenden, unter Anwendung dieser Methoden gemachten Arbeiten sollen dieselben im Nachstehenden beschrieben werden.

Bezeichnung der Aufgabe. Im Allgemeinen wird die Erforschung der niederen Organismen für Zwecke der Gesundheitspflege folgende Punkte zu berücksichtigen haben. Vor Allem ist festzustellen, ob die in Frage kommenden Organismen überhaupt pathogen sind, d. h. im Stande sind, Krankheit zu bewirken. Darauf folgt der Nachweis ihrer Ansteckungsfähigkeit, d. h. Uebertragbarkeit auf andere, bis dahin gesunde Individuen, und zwar entweder

solche, die derselben Art angehören, wie das zuerst spontan von der Krankheit befallene, resp. künstlich inficirte Individuum, oder auf solche, die anderen Arten angehören. Ferner ist die Art und Weise, in welcher die pathogenen Organismen in den thierischen Körper gelangen, ihr Verhalten ausserhalb desselben in der Luft, im Wasser, im Boden zu verfolgen und schliesslich der Einfluss zu bestimmen, den entwickelungshemmende und zerstörende Stoffe auf dieselben ausüben. Ihr Aufenthalt im Körper interessirt die Hygiene nur soweit, als daraus Aufklärung über die Art der Infection zu erlangen ist, z. B. Localisation der pathogenen Organismen im Darm, Uebergang ins Blut, Bildung von Dauerzuständen innerhalb des Körpers. Häufig wird man in der Lage sein, so lange nämlich die einer bestimmten Infectionskrankheit eigenthümlichen Krankheitserreger, wie z. B. bei Cholera, Pest u. s. w., noch nicht bekannt sind, oder wenn es sich im Allgemeinen um das Erkennen der gesundheitsschädlichen Beschaffenheit von Luft, Wasser, Boden und um Beurtheilung des Desinfections-werthes gewisser Substanzen handelt, überhaupt das Vorkommen und Verhalten der den pathogenen Organismen erfahrungsgemäss am nächsten stehenden Bacterien und Pilze ins Auge zu fassen und daraus mit mehr oder weniger Wahrscheinlichkeit auf das Verhalten der präsumirten, aber noch nicht bekannten Krankheitserreger zu schliessen.

Bestimmung der pathogenen Eigenschaften. Wenden wir uns nun zu den einzelnen dieser Aufgaben, und zwar zunächst zur Feststellung der pathogenen Eigenschaften und der Ansteckungsfähigkeit der Mikroorganismen.

Von einigen Forschern wird immer noch behauptet, dass im Blute und in den Geweben des gesunden Körpers Bacterien vorkommen; doch stützt sich diese Behauptung nicht auf den directen Nachweis durch das Mikroskop, sondern theilweise auf theoretische Voraussetzungen und theilweise auf Experimente über die Fäulnissfähigkeit von unter antiseptischen Cautelen isolirten gesunden Organtheilen, gegen welche Experimente sich indessen sehr gewichtige Einwände, deren Besprechung hier zu weit führen würde, erheben lassen. So viel steht fest, dass es vermittelst des Mikroskopes und mit Hülfe von Untersuchungsverfahren, die noch vereinzelte Bacterien mit Sicherheit in thierischen Organen erkennen lassen, bis jetzt nicht gelungen ist, dieselben im Blute und Geweben gesunder Individuen so nachzuweisen, dass kein Zweifel über ihr Vorhandensein daselbst auch während des Lebens Platz greifen kann.

Sobald also Bacterien, und dasselbe gilt ganz ebenso von anderen Mikroorganismen, im Innern der Organe, sei es in den Blut- oder Lymphgefässen oder im Gewebe selbst, in Lageverhältnissen gefunden werden, die nur im lebenden Körper zu Stande kommen können, oder wenn gar der unverkennbare Einfluss der Mikroorganismen auf das von ihrer Invasion betroffene Gewebe, z. B. Nekrose der in einem gewissen Bereich gelegenen Zellen, Anhäufung von Rundzellen in der Nachbarschaft, Eindringen der fremden Organismen in die Zellen u. s. w. zu constatiren ist, dann müssen solche Mikroorganismen als pathogen angesehen werden, mindestens müssen sie verdächtig erscheinen und zur weiteren Untersuchung und Aufklärung des Befundes auffordern.

Schwieriger ist die Entscheidung über die pathogene Eigenschaft der an der Oberfläche des Körpers und auf seinen Schleimhäuten gefundenen Mikroorganismen. Hier können nur das massenhafte Auftreten und die Formunterschiede zwischen den vermuthlich pathogenen und den als unschädlich bekannten gewöhnlich im oder am Körper schmarotzenden Organismen maassgebend sein. Bis jetzt ist leider diesen harmlosen Schmarotzern zu wenig Aufmerksamkeit gewidmet; ein Mangel, der sich ganz besonders bezüglich der Darmaffectionen fühlbar macht und gegenüber allen Angaben über pathogene Bacterien im Darm so lange eine gewisse Vorsicht gebietet, bis nicht jeder Zweifel ausgeschlossen ist, dass eine Verwechselung mit habituellen Bewohnern des Darms, die unter aussergewöhnlichen aber für sie günstigen Verhältnissen sich vermehren und durch grosse Zahl bemerklich machen, vorliegt.

Gewiss ist aber auch die Zeit nicht fern, wo die im gesunden Körper schmarotzenden unschädlichen Mikroorganismen so bekannt sein werden, dass sie sofort als solche, wenn es auf die Unterscheidung von pathogenen Wesen ankommt, bestimmt und aus ihrer Zahl die neu auftretenden pathogenen Organismen mit Sicherheit ausgeschieden werden können.

Nachweis der pathogenen Mikroorganismen. Wenn es sich nun darum handelt, die im erkrankten Körper vermutheten pathogenen Organismen, zunächst Bacterien, aufzusuchen, so begegnet man bei der gewöhnlichen ohne besondere Vorbereitungen und Kunstgriffe ausgeführten mikroskopischen Untersuchung den erheblichsten, stellenweise geradezu unübersteiglichen Hindernissen. Denn wenn auch manche pathogene Bacterien durch Grösse, charakteristische Form, Beweglichkeit sich so auszeichnen, dass sie nicht leicht zu übersehen sind, so besitzen dagegen andere eine so einfache Form und sind so klein, dass sie, mit den ähnlich gestalteten Zerfallsproducten der Gewebszellen vermengt, unmöglich von diesen unterschieden werden können. Glücklicherweise haben jedoch die Bacterien eine Eigenschaft, die es ermöglicht, alle diese Schwierigkeiten zu überwinden. Es ist das ihre in hohem Grade bestehende Fähigkeit, gewisse Farbstoffe, ganz besonders die Anilinfarben, aufzunehmen. Da aber die Flüssigkeiten, in denen sich die Bacterien befinden, also das Blut, Schleim, Gewebssäfte u. s. w., wenn sie unmittelbar mit den Anilinfarben versetzt werden, Niederschläge geben, die ebenfalls gefärbt sind und entweder durch körnchen- oder fadenartige Gestaltung Bacterien vortäuschen oder durch ihre voluminösen Massen die vorhandenen Bacterien verdecken können, so bedarf es noch weiterer Vorbereitungen, um die Bacterien vermittelst der Farbstofflösungen gut sichtbar zu machen. Auch ist bei der Untersuchung der gefärbten Objecte mit dem Mikroskope eine ganz besondere Vorrichtung zur Beleuchtung des Präparates erforderlich, wenn der Vortheil der Färbungsmethode zur vollen Geltung gelangen soll.

Vor einigen Jahren habe ich die geeignetsten Methoden zum Nachweis der Bacterien, wenn sie in Flüssigkeiten oder in thierischen Geweben sich befinden, eingehend beschrieben und theils in einer in F. Cohn's Beiträgen zur Biologie der Pflanzen Band 2 Heft 3 erschienenen Arbeit theils in einer Schrift über Wundinfectionskrankheiten veröffentlicht. Bezüglich der Einzelheiten dieser Methoden muss ich, um nicht zu ausführlich zu werden, auf die genannten Schriften verweisen; hier sollen nur die Punkte zur Sprache kommen, welche seit jener Zeit eine Verbesserung erfahren haben oder welche Missverständnissen ausgesetzt gewesen sind und deswegen einer Richtigstellung bedürfen.

Mikroorganismen in Flüssigkeiten. Das Verfahren, die Bacterien in Flüssigkeiten, z. B. in Blut, Eiter, Gewebssaft durch Farbstoffe kenntlich zu machen, besteht darin, dass die betreffende Flüssigkeit in möglichst dünner Schicht auf dem Deckglas ausgebreitet, getrocknet und dann der Einwirkung der Farbstofflösungen ausgesetzt wird. Wenn die bacterienhaltigen Flüssigkeiten nicht oder nur sehr wenig eiweisshaltig sind, dann gelingt die Färbung fast immer in vortrefflicher Weise. Sobald sie aber mehr oder weniger eiweisshaltig sind, dann haftet noch ziemlich lange Zeit nach dem Eintrocknen die Schicht nicht so fest, dass sie nicht grösstentheils von der Farbstofflösung aufgeweicht, zerrissen und selbst theilweise vom Deckglas heruntergespült wird. Auch das Eiweiss ist durch das Eintrocknen nicht unlöslich geworden, es geht grösstentheils in die Farbstofflösung über und bildet mit dem Farbstoff Niederschläge, die sich am Deckglase fest anhängen, Alles verdecken und unkenntlich machen. Dieser Uebelstand lässt sich fast ganz vermeiden, wenn statt der bei der Färbung fast ausschliesslich zur Anwendung kommenden wässrigen Lösungen von Fuchsin, Methylviolet u. s. w. das in Glycerin gelöste Anilinbraun genommen wird. In der erwähnten Arbeit über Bacterienuntersuchung ist Seite 407 das Glycerinbraun angelegentlichst empfohlen und von den jenem Aufsatz beigegebenen Photogrammen sind alle, welche Bacterien im Blut oder Gewebsflüssigkeiten abbilden, nach Präparaten angefertigt, die im Glycerinbraun liegen. Trotzdem ist von Manchen immer wieder versucht, Blutpräparate in wässrigen

1*

Lösungen zu färben und unbegreiflicher Weise hat man die unausbleiblichen Misserfolge der Methode selbst zur Last gelegt. Noch in letzter Zeit ist von M. Wolff*) die Behauptung aufgestellt, dass mit dem von mir angegebenen Verfahren eine sichere Diagnose auf Bacterien nicht zu machen sei. Er mühte sich vergeblich ab, die „Körnchen und Kugeln" in seinen mit wässrigen Lösungen gefärbten Blutpräparaten los zu werden.**) Dass übrigens auch mit der bisherigen Methode in geschickten Händen etwas geleistet werden kann, beweist ausser manchen anderen nach derselben ausgeführten erfolgreichen Untersuchungen die Arbeit von Ogston, der in sehr zahlreichen Fällen in den aus menschlichen Körpern entnommenen Flüssigkeiten verschiedene Arten von Bacterien nachgewiesen hat und den seine dabei gewonnenen Erfahrungen zu folgendem Ausspruche veranlassen: *It is impossible to confound them (microorganisms) with any such granular bodies as those alluded to by Wolff (The British Medical Journal 1881. March 12).*

Immerhin war es wünschenswerth, die Bacterienfärbung in eiweisshaltigen Flüssigkeiten so zu verbessern, dass sie auch dem Ungeübten sichere Resultate giebt: Am einfachsten musste dies Ziel dadurch erreicht werden, dass das in der am Deckglas haftenden Schicht vorhandene Eiweiss in eine unlösliche Form übergeführt wurde. Schon beim Aufbewahren der präparirten Deckgläser kann man bemerken, dass nach einigen Tagen, bisweilen erst nach Wochen die Schicht fester geworden ist, besser am Deckglas haftet und weniger Niederschlag beim Zusatz der Farbflüssigkeit giebt. Bessere Resultate und schnelleres Unlöslichwerden der angetrockneten Schicht lassen sich erzielen, wenn die Deckgläser in Lösungen gelegt werden, die coagulirend auf Albumin wirken, wie Lösungen von Chromsäure, chromsauren Salzen, Alaun, Tannin. Der günstige Einfluss, den der Alkohol auf die bacterienhaltigen Gewebe beim Erhärten bezüglich der in ihnen enthaltenen Eiweisskörper äussert, brachte mich schliesslich darauf, die am Deckglas befindliche Eiweissschicht ebenfalls durch Alkohol zu härten, was denn auch den erwünschten Erfolg hatte. Wenn die Präparate einige Zeit in absolutem Alkohol gelegen hatten, war die Schicht ganz unlöslich geworden und färbte sich gleichmässig und in ausgezeichneter Weise. Keine Körnchen und andere störende Niederschläge beeinträchtigten die Diagnose der im Blute, Eiter u. s. w. vorhandenen Mikrokokken oder anderer Bacterienarten. Eins nur ist bei dieser Härtung durch Alkohol unsicher, das ist die Bestimmung der Zeit, während welcher die Präparate im Alkohol verbleiben müssen. Bisweilen sind einige Tage genügend, manchmal ist aber auch erst nach mehreren Wochen der erforderliche Grad von Unlöslichkeit der Eiweissschicht erreicht. Es ist deswegen gerathen, eine hinreichende Zahl von Deckgläsern zu präpariren und von Zeit zu Zeit eins aus dem Alkohol herauszunehmen und die Färbung zu versuchen.

Sehr oft ist es nun aber bei Untersuchungen von Infectionskrankheiten erwünscht, sofort über das Vorhandensein von Bacterien in den Organen des thierischen Körpers orientirt zu sein, um beispielsweise gleich bei der Section den Erfolg einer Impfung und die etwa vorzunehmende Weiterimpfung oder ähnliche Verhältnisse beurtheilen zu können. In solchen Fällen würde man natürlich nicht auf das Gelingen der Alkoholhärtung warten können. Es

---

*) Virchow's Archiv für pathologische Anatomie, Bd. LXXXI Hft. 2 u. 3.

**) Bei der Beurtheilung meiner Untersuchungsmethode begeht Wolff noch den Irrthum, dass er aus der Schrift über Wundinfectionskrankheiten einige Sätze anführt, die sich auf in Alkohol gehärtete Gewebstheile und die in Schnitten von solchen Alkoholpräparaten aufzusuchenden Bacterien beziehen, während Wolff selbst nur immer mit der Eintrocknungsmethode und zwar mit der für seine Zwecke am wenigsten geeigneten Art derselben gearbeitet hat. Wenn Wolff beide von mir ausführlich beschriebene Verfahren sich angeeignet hätte, dann hätte er sehr bald erkennen müssen, dass die Färbung der am Deckglas eingetrockneten Blutschicht einen ganz wesentlich anderen Effect hat, als die nach der Weigert'schen Kernfärbungsmethode ausgeführte Färbung von Gewebsschnitten und dass schon deswegen aus einem Misserfolg bei Anwendung des einen Verfahrens nicht auf Untauglichkeit des anderen geschlossen werden kann. Es bedarf hiernach wohl kaum der Erklärung, dass ich die von Wolff angegriffenen Sätze über die Möglichkeit einer sicheren Diagnose von Bacterien in Gewebsschnitten in ihrem vollen Umfange aufrecht erhalte.

war nothwendig, wenn die Methode in jeder Beziehung leistungsfähig sein sollte, auch hierfür Rath zu schaffen.

Als die Untersuchungen von Ehrlich*) bekannt wurden, mussten die ausgezeichneten Resultate, welche er an erhitzten Blutpräparaten zur Unterscheidung der verschieden granulirten Blutzellen erhalten hatte, dazu auffordern, auch den Einfluss der Hitze auf Bacterienpräparate zu studiren. Ehrlich setzt die mit der angetrockneten Blutschicht versehenen Deckgläser ein bis mehrere Stunden lang hohen Temperaturen (120° bis 130°) aus. Durch eine so intensive Einwirkung von Hitze wird die Blutschicht vollkommen fest und unlöslich, aber die Bacterien verlieren, wie die angestellten Versuche ergaben, dadurch ihr Vermögen Farbstoff aufzunehmen. Für unseren Zweck war es jedoch schon ausreichend, die Hitze nur so lange wirken zu lassen, dass die Eiweisskörper unlöslich werden, und das lässt sich in weit kürzerer Zeit erreichen. Wenn die Deckgläser nämlich nur wenige Minuten lang einer Temperatur von 120° bis 130° ausgesetzt werden, dann ist die Schicht schon so fest, dass sie mit den Farblösungen keine Niederschläge mehr giebt und sich sehr gut färben lässt. Ganz genau lässt sich die Dauer der erforderlichen Hitzewirkung nicht angeben. Bisweilen ist das Präparat schon nach 2 Minuten, bisweilen auch erst nach 5 bis 10 Minuten genügend erhitzt. Wohl zu beachten ist noch, dass manche Bacterien, z. B. die Milzbrandbacillen, wenn sie zuerst erhitzt und dann gefärbt werden, etwas verändert erscheinen; sie sehen dünner und zierlicher aus, als wenn sie mit Glycerinbraun gefärbt sind, auch zeigen sie die den Milzbrandbacillen ganz eigenthümliche Gliederung nicht so deutlich. Ich will bei dieser Gelegenheit nicht unterlassen, überhaupt darauf aufmerksam zu machen, dass geringe Unterschiede, ähnlich den eben besprochenen, also hauptsächlich im Breitendurchmesser der Bacterien zu bemerken sind, wenn die Präparate in verschiedener Weise hergestellt oder mit verschiedenen Farbstoffen gefärbt sind. Zu Vergleichen unter einander können deswegen nur nach einem vollständig gleichartigen Verfahren hergestellte Präparate benutzt werden. Wenn man beispielsweise die charakteristische Gliederung der Milzbrandbacillen, die eine untrügliche Diagnose derselben gewährt, am deutlichsten zur Anschauung bringen will, dann ist es, wie schon vorher erwähnt wurde, am zweckmässigsten, die Färbung mit Glycerinbraun vorzunehmen. Mehr oder weniger tritt diese besondere Form der Milzbrandbacillen auch bei anderen Färbungen hervor, aber doch nicht sicher genug, um darauf hin eine Diagnose derselben stellen zu können und wenn dann bei einer anderen Präparationsmethode jenes Kennzeichen der Milzbrandbacillen nicht deutlich genug in die Augen fällt, dann ist man gewiss noch nicht berechtigt zu behaupten, wie Zürn**) es gethan hat, dass von einem Gegliedertsein der Bacillen keine Rede sein könne.

Trotz der erwähnten Mängel ist das Erhitzungsverfahren eine wesentliche Bereicherung der Untersuchungsmethoden auf Bacterien. Bei den Arbeiten über Infectionskrankheiten im Gesundheitsamte kommt es unausgesetzt zur Anwendung und ist geradezu unentbehrlich geworden. Bei jeder Section eines Thieres, das einer Infectionskrankheit erlegen ist, wird sofort Blut, Gewebssaft von der Impfstelle, aus der Lunge, Milz und wenn erforderlich auch aus anderen Organen in der geschilderten Weise untersucht und je nach dem Befunde, welcher natürlich nur einen vorläufigen Charakter hat und durch sorgfältige nachträgliche Untersuchung der in Alkohol gehärteten Organe ergänzt wird, richtet sich der weitere Gang des Experimentes.

*) Verhandlungen der physiologischen Gesellschaft zu Berlin, 1878/79 No. 20.
Zeitschrift für klinische Medicin, Bd. I Hft. 3.

**) Separatabdruck aus dem I. Bericht des neuen landwirthschaftlichen Instituts der Universität Leipzig 1881.

Zürn bezieht sich zum Beweise seiner Behauptung auf einige Photogramme von Milzbrandbacillen, die er seiner Abhandlung beigegeben hat. Aber diese Photogramme genügen auch nicht den allerbescheidensten Ansprüchen, die an mikrophotograpische Leistungen zu stellen sind, und wenn die Präparate, nach denen sie angefertigt wurden, nicht besser sein sollten, dann ist es allerdings erklärlich, wie Zürn zu seiner abweichenden Meinung gekommen ist.

Was nun die Wahl der Farbstoffe betrifft, so verdanken wir auch hier Ehrlich*) die Einführung einer neuen, sehr zu empfehlenden Anilinfarbe, des Methylenblaus, welches sich ganz besonders zur Färbung von erhitzten Präparaten eignet. In schwierigen und in zweifelhaften Fällen ist es allerdings rathsam, auch andere Anilinfarben zu versuchen, da manche Bacterien sich in Bezug auf ihr Färbungsvermögen ganz eigenthümlich verhalten, worauf ich noch später zurückzukommen habe. Wo es irgend angeht, sollte man einige Präparate mit braunen Farbstoffen färben, um die so dringend nothwendige photographische Abbildung der Bacterien zu ermöglichen. Dem Auge gefallen freilich die ausserordentlich kräftigen und gesättigten Töne der rothen und blauen Anilinfarben weit mehr als die meistens etwas matt ausfallenden braunen Färbungen. Aber es ist bis jetzt nicht gelungen, von blau oder roth gefärbten, in Canadabalsam eingelegten Bacterien gute Photographien zu erhalten,**) während die braun oder gelb gefärbten der photographischen Aufnahme nicht die geringsten Schwierigkeiten bereiten.

Präparate, deren Schicht durch Alkoholbehandlung oder Hitze in der angegebenen Weise unlöslich gemacht und mit passend gewählter Farbstofflösung gefärbt wurde, müssen frei von körnigen Niederschlägen, Farbstoffpartikelchen und dergleichen sein; sie enthalten nur noch die in der Flüssigkeit, welche auf dem Deckglase ausgebreitet wurde, ursprünglich vorhandenen geformten Elemente, und wenn die Färbung nicht zu schwach oder zu stark ausgefallen ist, dürfen nur diese letzteren gefärbt erscheinen, während der Trocken-Rückstand der Flüssigkeit oder das eingetrocknete Plasma kaum durch einen geringen Farbenschimmer angedeutet ist. Zu Verwechselungen mit Mikroorganismen können demnach allein noch die Zellen und deren Producte, seien es auf natürlichem oder künstlichem Wege entstandene, Veranlassung geben.

Was die eben erwähnten Kunstproducte betrifft, so wird Jeder, der einige Untersuchungen von Blut, Eiter, Gewebssaft u. s. w. gemacht hat, sich bald überzeugen, dass, je dünnflüssiger die untersuchte Flüssigkeit ist, um so weniger die Form der in ihr enthaltenen Zellen beim Ausbreiten auf dem Deckglase verändert wird. Im Blut beispielsweise behalten die weissen Blutkörperchen mit wenigen Ausnahmen ihre runde Form bei und erscheinen also nach dem Trocknen als Kreise, in denen der vielgestaltige, oft bandartige Kern liegt. Wenn aber die Flüssigkeit dick und zähe ist, was ganz besonders von dem Gewebssaft der Organe, z. B. der Milz oder Lunge gilt, dann gelingt es meistens nicht, dieselbe zu einer dünnen Schicht auszubreiten, ohne dass die zelligen Elemente mehr oder weniger verzerrt, selbst ganz zerrissen und zersprengt werden. Es entstehen dann kometenartige Figuren, an denen der Rest des Zellenkerns den Kopf, und die ausgestrichene, oft lang hingezogene übrige Kernsubstanz den Schwanz bildet. Die Deutung dieser oft ganz phantastisch geformten Gebilde ergiebt sich ganz von selbst. Wenige neben einander liegende Gesichtsfelder zeigen alle Uebergangsformen von den fadenartigen Figuren, die an den Rändern der ausgestrichenen Masse liegen, wo sie am dünnsten war und die ausstreichende Nadel die Zellen am stärksten quetschte und zerdrückte, bis zu den unveränderten, d. h. unbeschädigten Zellkernen an den dickeren Stellen des Präparates. Man sollte also meinen, dass diese verzerrten Zellkerne, die auf den ersten Blick sich als solche zu erkennen geben, mit Mikroorganismen nicht verwechselt werden könnten, und doch ist dies der Fall gewesen.

---

*) Zeitschrift für klinische Medicin, Bd. 2 S. 710.

**) Wenn roth oder blau gefärbte Präparate, die in einer Lösung von essigsaurem Kali oder einer anderen nicht stark lichtbrechenden Lösung sich befinden, photographirt werden, dann kommt das auf dem Negativ entstehende Bild nicht durch die Wirkung der blauen oder rothen Anilinfarbe, für welche bei durchfallendem Lichte die Collodiumschicht gar nicht empfindlich ist, zu Stande, sondern das Bild wird durch den Unterschied im Brechungsvermögen der Bacteriensubstanz und der Einschlussflüssigkeit bedingt. Das so erhaltene Bild ist also kein reines Farbenbild, wie wir es an in Canadabalsam befindlichen Bacterien zu sehen gewöhnt sind, und kann auch mit diesen letzteren Bildern nicht unmittelbar verglichen werden.

Fokker*) glaubte nämlich bei seinen Untersuchungen über Milzbrand gefunden zu haben, dass es zwei Arten dieser Krankheit giebt. Bei der einen finden sich die bekannten Bacillen, bei der anderen fehlen sie gänzlich, oder sind doch nur vereinzelt vorhanden. Dagegen fand er lange Fäden, die, wie er sagt, mit Lymphzellen verbunden waren und Aehnlichkeit mit Spermatozoen hatten, indem die Lymphzelle den Kopf, der Faden den Schwanz bildete. Fokker hält diese Gebilde, die er als Pilzfäden (Pilzdraden) bezeichnet, für richtige durch die Impfung übertragene Pilze, die, von den Lymphzellen aufgenommen, innerhalb derselben auswachsen, diese Zellen in die Länge ziehen und an einem Ende durchbohren. Schliesslich fand Fokker dieselben Gebilde in der normalen Milz. Aber auch das belehrte ihn noch nicht über die wahre Natur seiner vermeintlichen Pilzfäden, sondern er tröstet sich damit, dass Pilze zu den gewöhnlichen Körperbestandtheilen gehören. Eine Abbildung, die er einer seiner Publicationen beigegeben hat, lässt es ausser allem Zweifel, dass Fokker's Pilzfäden ausgestrichene Zellenkerne sind.

Eher zu entschuldigen würde noch die Verwechselung von Mikrokokken mit den Körnchen der granulirten Zellen, insbesondere der von Ehrlich so genannten Mastzellen, sein. Die Körnchen von manchen dieser Zellen scheinen in einem sehr losen Zusammenhange zu stehen; die Zellen zerfallen beim Ausstreichen auf dem Deckglas leicht, ihre Körnchen werden zerstreut und können dem Weniggeübten das Bild von einzelnen und in Gruppen geordneten Mikrokokken vortäuschen. Ganz besonders grosse und regelmässig entwickelte derartige Zellen kommen im Blut und namentlich in der Milz und Lunge von weissen Ratten, weniger häufig bei weissen Mäusen vor und ich erinnere mich, Präparate aus diesen Organen gesehen zu haben, in denen die intensiv gefärbten Körnchen der zerdrückten Zellen in solcher Menge über weite Strecken ausgestreut waren, dass dieser Anblick einem enragirten Mikrokokkensucher unzweifelhaft einen Freudenruf entlockt haben würde. Aber die Präparate stammten von gesunden Thieren und bei genauerem Durchmustern derselben fanden sich noch manche unzerstörte Zellen, in denen die Körnchen einen schwach gefärbten Kern umlagerten und sich dadurch als Bestandtheile von granulirten Zellen zu erkennen gaben. Fast immer sind diese Körnchen überdies durch ihre ungleiche Grösse, oft auch durch den eigenthümlichen Farbenton, den sie annehmen, von Mikrokokken zu unterscheiden. Aber auf jeden Fall ist derartigen Befunden gegenüber Vorsicht geboten und, wenn Zweifel bleiben, der Vergleich mit den entsprechenden von normalen Thieren entnommenen Objecten, sowie mit Schnitten von gehärteten Theilen, welche die verdächtigen Körnchenhaufen im Zusammenhange und an ihrer natürlichen Lagerstätte zeigen, anzustellen. Mir ist es bislang noch nicht vorgekommen, dass es nicht möglich gewesen wäre, eine sichere Entscheidung zwischen Mikrokokken einerseits und den Bestandtheilen der granulirten Zellen andererseits zu treffen.

Um sich aber die erforderliche Erfahrung auf diesem Gebiete zu verschaffen, ist Jedem, der sich mit experimentellen Untersuchungen über Infectionskrankheiten beschäftigt, dringend zu rathen, sich mit den Resultaten der Ehrlich'schen Arbeiten über die granulirten Zellen bekannt zu machen.

Auch noch aus einem anderen die Infectionskrankheiten angehenden Grunde möchte ich das Ehrlich'sche Untersuchungsverfahren für wichtig halten. Ehrlich hat den Beweis geliefert, dass unter den zelligen Elementen des Blutes, die man im Grossen und Ganzen für gleichwerthig hielt, mit Hülfe von Farbstoffen, was ebenso viel sagen will als mit Hülfe chemischer Reactionen, Unterschiede festzustellen sind, die zu der Vermuthung führen müssen, dass diese Unterschiede mit der Abstammung und der physiologischen Bedeutung der Zellen in Beziehung stehen. Was soll nun aber die differenzirende Färbung der Blutzellen mit den Infectionskrankheiten zu thun haben? Einfach das, dass bei einer oder mehreren Gruppen von Infectionskrankheiten die Krankheitserreger möglicherweise in einer den weissen

*) Centralblatt für die medicinischen Wissenschaften, 1880 No. 44. 1881 No. 2.
Weekblad van het Nederlandsch Tydschrift voor Geneeskunde, 1881 No. 4.

Blutkörperchen ähnlichen, z. B. amöbenartigen Form vorkommen könnten und dass es in diesem Falle vom grössten Werth sein würde, sichere Unterscheidungsmerkmale zu besitzen, wie sie das Ehrlich'sche Färbungsverfahren unzweifelhaft darbietet. Es ist gewiss eine einseitige, wenn auch augenblicklich allgemein adoptirte Meinung, dass alle noch unbekannten Infectionsstoffe Bacterien sein müssen. Warum sollen nicht ebenso gut auch andere Mikroorganismen ein parasitisches Leben im thierischen Körper zu führen im Stande sein? Dass dies gerade nur amöbenartige Wesen wären, will ich nicht behaupten. Es sind auch andere dem Reiche der Protisten Angehörige verdächtig.*) Der Gedanke, dass amöbenartige Gebilde eine Rolle als Parasiten spielen könnten, wird nur deswegen so nahe gelegt, weil ein ganz frappantes Beispiel aus der Pflanzenwelt vorliegt. Es betrifft dasselbe eine eigenthümliche Krankheit der Kohlpflanze, welche lange Zeit den Botanikern ein Räthsel blieb, bis Woronin**) die Lösung fand. Er wies nach, dass ein wahrscheinlich zu den einfachsten Formen der Myxomyceten gehöriger Organismus in Gestalt eines farblosen, feinkörnigen Plasma-Tröpfchens in die Wurzel der Kohlpflanze eindringt. In einer Parenchymzelle der Wurzel angelangt, vermischt sich der von Woronin als *Plasmodiophora brassicae* bezeichnete Parasit mit dem Plasma der Zelle und ist anfangs von dem Zelleninhalte gar nicht zu unterscheiden. Erst später macht sich seine Gegenwart durch charakteristische Veränderungen der Zelle bemerklich. (Vergl. Tab. XIV Phot. 83, 84.) Der weitere höchst interessante Entwickelungsgang der Plasmodiophora interessirt uns hier weiter nicht, umsomehr aber die erste Zeit seines Aufenthaltes in der inficirten Wurzel. Denn, gesetzt den Fall, dass sich in ähnlicher Weise farblose, äusserst kleine Plasma-Klümpchen in die Säftemasse des thierischen Körpers einen Weg bahnten und sich daselbst vermehrten, würde es da wohl viel anders gehen, als in der Wurzel der Kohlpflanze, wo es nicht möglich ist, den Parasiten vom Plasma der Zelle zu differenziren? Gewiss würde man im Blute solche Plasma-Klümpchen für Bruchstücke oder Zerfallsproducte weisser Blutkörperchen halten, wenn es nicht gelingen würde, mit feineren Färbungsmethoden eine Unterscheidung zu bewerkstelligen. In Woronin rief das Studium der Plasmodiophora schon ähnliche Betrachtungen hervor. Er vermuthet, „dass die Erscheinung und Entwickelung vieler pathologischer Auswüchse und Anschwellungen, die auf dem thierischen Körper vorkommen, durch kleine Myxamöben, die in den lebendigen Organismus eindringen, sich zu Plasmodien entwickeln, eine bedeutende Reizung bedingen, u. s. w. zu Stande kommt".

*) Ihre Bestätigung hat diese Vermuthung schneller gefunden, als ich erwarten konnte. v. Wittich (Centralblatt für die medicinischen Wissenschaften, 1881 No. 4) berichtete vor Kurzem, dass er im Blute von Hamstern Spirillen gefunden habe. Dies veranlasste mich, gleichfalls das Blut von Hamstern daraufhin zu untersuchen. Von den Thieren, die zu diesem Zwecke angeschafft waren, starb eins spontan am zweiten Tage der Gefangenschaft; es hatte aber auch an diesen beiden Tagen die Symptome eines schweren Erkranktseins gezeigt und war nicht, wie die von Wittich untersuchten Thiere, bis unmittelbar vor dem Tode anscheinend gesund. Bei der Section fanden sich in den inneren Organen keine Veränderungen, die als Todesursache hätten gedeutet werden können. Dagegen fanden sich im Blute sehr zahlreiche Gebilde, welche in ihren Bewegungen durchaus nicht den Spirillen oder Spirochäten glichen, sondern mit schlangenartigen Windungen sich zwischen den Blutkörperchen lebhaft und schnell bewegten. In einem im hohlen Objectträger gehaltenen Bluttropfen lagerten sich einige dieser Parasiten an den Rand und blieben daselbst längere Zeit in vollkommener Ruhe, so dass ihre Gestalt mit Sicherheit erkannt werden konnte. Sie besitzen einen spindelförmigen Leib mit feinkörnigem Inhalt. Im vorderen Theil dieser spindelförmigen Verdickung liegen meistens ein bis zwei dunklere Körnchen, nach hinten zu geht die Spindel allmählig in einen langen Faden über, der, wie mir schien, bei manchen Exemplaren in einer Doppelgeisel endet. Mit Spirillen und Spirochäten haben diese Parasiten offenbar gar nichts gemein; nach meiner Ansicht gehören dieselben in die Classe der Geiselmonaden und sind höchstwahrscheinlich identisch mit den von Lewis (*Quart. Journ. of microsc. Sc.* XIX. 1879) beschriebenen *flagellated organisms* im Rattenblut. Die Färbung mit Bismarckbraun gelingt ziemlich gut und es finden sich, um sich eine Vorstellung von der Form und Grösse dieser monadenartigen Gebilde zu verschaffen, unter den dieser Arbeit beigegebenen Photogrammen zwei nach solchen Präparaten angefertigte Bilder. (Tab. XIV Phot. 79, 80.) Später sind noch vier Hamster spontan erkrankt und gestorben. Auch im Blute dieser Thiere befanden sich jedesmal zahlreiche Geiselmonaden.

**) Pringsheim's Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik, 11. Bd. 1878.

Auch Eidam*), welcher die Angaben Woronin's bestätigt, spricht sich gleichfalls in diesem Sinne aus und hält es für möglich, dass bei manchen ihrer Aetiologie nach noch unaufgeklärten Infectionskrankheiten, bei denen man nach Bacterien vergeblich gesucht hat, Parasiten auftreten könnten, die zunächst sich von den Gewebselementen des Körpers nicht unterscheiden liessen und demgemäss der Plasmodiophora ähnlich verhalten würden.

Das Beispiel der Plasmodiophora wurde etwas ausführlicher besprochen, weil es recht dringend mahnt, beim Aufsuchen von belebten Krankheitserregern nicht allein, wie es jetzt durchgängig geschieht, Jagd auf Bacterien zu machen, sondern die Aufmerksamkeit auch auf andere geformte Elemente des Blutes oder des inficirten Organs zu richten.

Mikroorganismen in thierischen Geweben. An die im Vorhergehenden geschilderte Untersuchung von Flüssigkeiten schliesst sich unmittelbar diejenige der thierischen Organe selbst an, welche über die Lagerung und Vertheilung der pathogenen Organismen in den Geweben, ihre Beziehungen zu den benachbarten Zellen u. s. w. Auskunft geben soll.

Es handelt sich hierbei meistens um Objecte von den geringsten Dimensionen, die nur in sehr dünnen Schnitten des zu untersuchenden Gewebes zu erkennen sind, und man wird sich deswegen mit dem grössten Vortheil zur Herstellung der Schnitte des Mikrotoms bedienen. In Betreff der weiteren Behandlung der Schnitte mit den Farbstofflösungen, das Entwässern, Aufhellen und Einlegen derselben in Canadabalsam, sowie des Nutzens und Gebrauches des Abbe'schen Beleuchtungsapparates muss ich auf die ausführliche Darstellung verweisen, die ich in meiner Schrift über Wundinfectionskrankheiten gegeben habe.**) Derselben habe ich nur wenig hinzuzufügen.

Zunächst möchte ich auch hier wieder daran erinnern, dass die Untersuchung sich nicht ausschliesslich auf Bacterien zu richten hat, sondern auch andere möglicherweise vorkommende Mikroorganismen im Auge haben soll. Es ist das schon bei der Vorbereitung, insbesondere bei der Härtung der Gewebsstücke zu berücksichtigen. Bis jetzt hat sich die Alkoholhärtung durchweg als das geeignetste Härtungsverfahren für Bacterienpräparate erwiesen; ob sie das aber auch für alle Mikroparasiten ist, das scheint doch mindestens zweifelhaft, und es ist gewiss rathsam, in manchen Fällen auch andere Mittel zur Härtung, z. B. Chromsäure, Osmiumsäure, in Anwendung zu ziehen.

Dann scheint mir noch eine Erfahrung erwähnenswerth zu sein, die sich mir bei den Versuchen, die pathogenen Bacterien mit verschiedenen, namentlich mit den sogleich zu besprechenden braunen Farbstoffen zu tingiren, ergeben hat. Es ist das nämlich das oft ganz verschiedene Verhalten der einzelnen Bacterienarten gegen gewisse Farbstoffe. Es schien anfangs so, als ob alle Bacterienarten in diesem Punkte sich gleich verhielten, aber das ist nicht der Fall; so wie sich die Bacterienarten durch viele andere besondere Eigenschaften von einander unterscheiden, so auch durch das ihnen zukommende Färbungsvermögen. Um gleich eins der auffallendsten Beispiele dieser Art anzuführen, so färben sich die Recurrensspirochäten in der am Deckglas angetrockneten Blutschicht intensiv mit Fuchsin, Methylviolet, Gentiana u. s. w., während es nicht möglich ist, sie mit denselben Farbstoffen

---

*) Der Landwirth. Allgemeine landwirthschaftliche Zeitung, 1880 No. 97.

**) Nachdem diese Zeilen schon längere Zeit niedergeschrieben waren, kam mir der Aufsatz von Weigert „zur Technik der mikroskopischen Bacterienuntersuchungen" (Virchow's Archiv, Bd. 84 Heft 2) zur Kenntniss. Weigert nimmt für sich, und zwar mit Recht, das Verdienst in Anspruch, zuerst die Kernfärbungen auf Bacterienuntersuchungen angewendet zu haben. Ich habe es bei meiner ersten Veröffentlichung bestimmt ausgesprochen und wiederhole es hier, dass ich die Kenntniss von der Anwendung der Kernfärbung zum Nachweis von Bacterien in gehärteten Gewebsschnitten Weigert verdanke, und dass nur die zum sicheren Erkennen der gefärbten Bacterien im Gewebe erforderliche Verwendung des Abbe'schen Beleuchtungsapparates von mir eingeführt ist. Im Uebrigen freut es mich, constatiren zu können, dass Weigert auf Grund seiner reichen Erfahrungen in Bezug auf das Vorkommen von Bacterien, die mit unseren jetzigen Färbemitteln möglicherweise nicht sichtbar zu machen sind, zu ähnlichen Anschauungen gekommen ist, wie ich sie weiter unten entwickelt habe.

in Schnitten unter Anwendung der Kernfärbung zu tingiren. Nach meinen Versuchen gelingt es dagegen mit braunen Anilinfarben, leider auch nicht sehr kräftig, so dass das Aufsuchen der Spirochäten in Schnittpräparaten nicht zu den leichtesten Aufgaben gehört. Da es von den Meisten überhaupt für unmöglich gehalten wurde, die Spirochäten in gehärteten Objecten nachzuweisen, so füge ich zum Beweise für ihre Färbbarkeit zwei Photogramme hier bei, die Schnitte aus dem Gehirne eines mit Recurrens geimpften und auf der Höhe der Krankheit getödteten Affen abbilden. (Tab. IV Phot. 23, 24.)

Fast in entgegengesetzter Weise verhalten sich die Lepra-Bacillen. Dieselben sind am Deckglas nur ganz frisch zu färben; schon kurze Zeit nach dem Eintrocknen nehmen sie den Farbstoff nicht mehr an. In Alkohol gehärtet lassen sie sich dagegen durch lange Zeit, mindestens einige Jahre, ausgezeichnet mit Fuchsin, Gentianaviolet u. s. w., sehr schlecht aber mit Anilinbraun färben.

Die Mikrokokken färben sich fast sämmtlich gleichmässig intensiv mit blauen, rothen und braunen Anilinfarben. Aber bei den Bacillen machen sich wieder Unterschiede geltend. Manche nehmen sämmtliche Anilinfarben kräftig an, andere, z. B. die von Eberth zuerst beschriebenen kurzen Typhusbacillen in geringerem Maasse, wenn auch nicht so schwach, als es nach Eberth's Schilderung scheinen könnte. (Vergl. Tab. IX Phot. 49—53.)

Diese Unterschiede im Färbungsvermögen der Bacterien verdienen insofern Beachtung, als sie theils Beweismaterial für die Verschiedenheit der Bacterienarten in chemischer Beziehung liefern, theils aber auch zur vorsichtigen Beurtheilung negativer Befunde auffordern, da es nach den vorliegenden Erfahrungen nicht unmöglich scheint, dass die eine oder die andere Bacterienart die jetzt gewöhnlich zur Anwendung kommenden Farbstoffe nicht annimmt.

Ein kleiner Kunstgriff beim Färben mag bei dieser Gelegenheit noch erwähnt werden, da er unter Umständen recht hülfreich sein kann. Es lässt sich nämlich durch ein mässiges Erwärmen der Farbstofflösung die Zeit, innerhalb welcher die Färbung zu Stande kommt, erheblich abkürzen und zugleich eine stärkere Färbung erzielen. Es scheint sogar, als ob einzelne pathogene Bacterien nur auf diesem Wege hinreichend kräftig zu färben sind. Höher als ungefähr 40 bis 50 ° C. darf man indessen beim Erwärmen nicht gehen, weil sonst bindegewebsreiche Schnitte einzuschrumpfen anfangen.

Photographische Abbildungen von Mikroorganismen. Von der höchsten Bedeutung für die Erforschung der Mikroorganismen ist die photographische Abbildung derselben. Wenn irgendwo eine rein objective, von jedem Voreingenommensein freie Auffassung nothwendig ist, so ist es auf diesem Gebiete. Aber gerade das Gegentheil hat bisher stattgefunden und es giebt wohl nirgendswo zahlreichere subjectiv gefärbte Anschauungen und infolgedessen mehr Meinungsverschiedenheiten als in der Lehre von den pathogenen Mikroorganismen. Niemand wird bestreiten, dass die Verschiedenheit in der Auffassung der Verhältnisse eines und desselben Gegenstandes fast immer darin beruht, dass dieser Gegenstand dem ersten Forscher unter einem anderen Bilde erschien als dem zweiten. Man erinnere sich nur, dass durchweg mikroskopische Gegenstände in Frage stehen und dass beim Mikroskopiren nicht zwei Beobachter zu gleicher Zeit dasselbe Object ins Auge fassen und sich darüber verständigen können, sondern, dass der eine nach dem anderen den fraglichen Gegenstand zu Gesicht bekommt und, wie jeder Mikroskopiker weiss, schon die geringste Verschiebung der Mikrometerschraube zur Folge hat, dass so kleine Objecte, wie Bacterien, entweder ganz aus dem Gesichtsfelde verschwinden oder mit ganz anderen Umrissen und Schatten erscheinen. Immerhin ist die Verständigung über den gesehenen Gegenstand noch eher ermöglicht, wenn die Beobachtung desselben mit einem und demselben Instrumente, also mit der gleichen Beleuchtung, mit demselben Linsensystem und bei derselben Vergrösserung stattfindet. Wenn nun aber die vielen Bedingungen, unter welchen das mikroskopische Bild zu Stande kommt, verschieden sind, wenn z. B. der eine

Beobachter mit einer engen, der andere mit einer weiten Beleuchtungsblende, der eine mit schwachem, der andere mit starkem Ocular u. s. w. seine Untersuchung vornimmt, oder wenn gar schon die Präparation und Färbung des Objectes ungleich sind, wenn dasselbe ferner in Flüssigkeiten von verschiedenem Brechungsvermögen eingelegt ist, wie kann es da Wunder nehmen, wenn der eine Mikroskopiker behauptet, einen Gegenstand ganz anders, vielleicht dicker oder dünner, mehr oder weniger glänzend gesehen zu haben, oder wenn er ihn möglicherweise überhaupt nicht findet und deswegen sein Vorhandensein bestreitet? Und wie soll in solchen Fällen der Beobachtungsfehler, mag er nun auf der einen oder auf der anderen Seite liegen, unter den vielen vorher angedeuteten Möglichkeiten nachgewiesen werden? Lag es an der Präparation oder an der Handhabung des Mikroskops, dass die Beobachter über dasselbe Object zu verschiedenen Resultaten kamen? Das zu entscheiden wird ohne anderweitige Hülfsmittel fast nie gelingen; ein jeder der Streitenden bleibt natürlich bei seiner Meinung, und die medicinische Wissenschaft weiss nicht, wem sie Glauben schenken soll. Für diese Missstände, die sich in der Mikroskopie zum grössten Schaden der Wissenschaft schon unendlich oft geltend gemacht haben, giebt es nur ein Hülfsmittel, das ist die Photographie, die hier vermittelnd, ausgleichend und belehrend zugleich einzutreten hat. Das photographische Bild eines mikroskopischen Gegenstandes ist unter Umständen wichtiger als dieser selbst. Denn wenn ich Jemandem ein mikroskopisches Präparat in die Hand gebe in der Absicht, dass ganz bestimmte Theile desselben, z. B. bacterienführende Lymphgefässe, in Augenschein genommen werden sollen, so habe ich nicht die Sicherheit, dass nun auch wirklich die richtige Stelle gefunden und, wenn dies der Fall sein sollte, die richtige Einstellung, Beleuchtung u. s. w. gewählt wird. Die Photographie dagegen giebt ein für alle mal und ohne dass auch nur die geringste Täuschung möglich wäre, das mikroskopische Bild genau in der Einstellung, Vergrösserung und Beleuchtung wieder, in der es bei der Aufnahme sich befand. Nichts ist einfacher als sich über das, was ein Photogramm darstellt, zu verständigen, denn beliebig viele Beobachter können zu gleicher Zeit das bisher nur einem Einzelnen zugängliche Bild in Augenschein nehmen, man kann das Object, auf welches es ankommt, mit dem Finger bezeichnen, mit dem Zirkel messen, mit anderen daneben gelegten Photogrammen desselben oder anderer Objecte unmittelbar vergleichen, kurz alles vornehmen, was zur Verständigung über den streitigen Gegenstand dienen kann.

Ein anderer vielleicht noch höher zu veranschlagender Nutzen der Photographie liegt in der strengen Controle, zu welcher sie den Mikroskopiker seinen eigenen Beobachtungen gegenüber zwingt. Zeichnungen mikroskopischer Gegenstände sind fast niemals naturgetreu, sie sind immer schöner als das Original, mit schärferen Linien, kräftigeren Schatten als dieses versehen, und was macht nicht manchmal gerade eine schärfere Linie oder ein dunklerer Schatten an geeigneter Stelle aus, um dem Bilde eine ganz andere Bedeutung zu geben. Auf die Auswahl des Präparates kommt es ebenfalls bei der Zeichnung nicht an; denn auch von einem schlechten und selbst von einem nicht beweiskräftigen Präparate lässt sich eine correcte und scheinbar beweisende Zeichnung herstellen. Das ist nun selbstverständlich bei der photographischen Abbildung nicht möglich. Hier wird ja der Schatten des Präparates selbst als Bild festgehalten und der mikroskopische Gegenstand zeichnet sich selbst; dabei ist es auch nicht im Geringsten möglich, einen verbessernden Einfluss auf die einzelnen Theile des Bildes auszuüben. Es bleibt also nichts übrig, als solche Präparate herzustellen, die nicht allein den eigenen Ansprüchen genügen, sondern auch allseitiger Kritik in Bezug auf ihre Beweiskraft Stand zu halten vermögen. Wer Zeichnungen von seinen mikroskopischen Untersuchungsobjecten veröffentlicht, der hat mit der Kritik kaum zu rechnen, denn die Zeichnung wird unwillkürlich schon im Sinne der subjectiven Anschauung des Autors angefertigt. Wer aber ein Photogramm veröffentlicht, der begiebt sich damit jedes subjectiven Einflusses auf die Abbildung seines Präparates, er legt gewissermaassen das Untersuchungsobject selbst seinem Publikum vor und lässt letzteres unmittelbar an seiner

Beobachtung Theil nehmen. Dieses Bewusstsein, das Untersuchungsobject im photographischen Bild vervielfältigt der wissenschaftlichen Welt zur Kritik offen preisgeben zu müssen, zwingt den Mikroskopiker, sich über die Richtigkeit seiner Beobachtung wiederholt Rechenschaft zu geben und das Resultat seiner Untersuchung nicht eher an die Oeffentlichkeit zu bringen, als bis er seiner Sache ganz gewiss ist. Eine allgemeine Anwendung der Photographie bei mikroskopischen Arbeiten würde eine grosse Zahl unreifer Publicationen gewiss verhütet haben.

Von welchem Werthe die Photographie gerade für Untersuchungen auf dem Gebiete der Infectionskrankheiten ist, mögen einige wenige Beispiele erläutern.

Lewis*) hat sich sehr eingehend mit dem Studium der Bacterien beschäftigt und unter Anderem auch die Recurrensspirochäten gelegentlich der in Indien herrschenden Recurrensepidemie untersucht. Er kam dabei zu dem Resultat, dass die in Indien gefundenen Recurrensspirochäten dicker seien als die europäischen, die er nach meinen Photogrammen in Cohn's Beiträgen beurtheilte. Lewis ist als ein gewissenhafter Beobachter bekannt und seine Angaben verdienen volle Berücksichtigung. Die Wissenschaft hätte sich also in Zukunft mit diesen beiden verschiedenen Recurrensspirochäten, den indischen und den europäischen, zu schleppen gehabt und würde auch mit der Möglichkeit zu rechnen gehabt haben, die von Lewis angedeutet wird, dass nämlich wegen dieser Verschiedenheit der Spirochäten die durch sie bedingte Krankheit auch eine verschiedene sei. Glücklicherweise hat nun aber Lewis gleichzeitig Photogramme seiner indischen Spirochäten veröffentlicht und da klärt sich die angebliche Differenz sofort auf. Man sieht auf den Photographien von Lewis die Blutkörperchen sowohl als die Spirochäten von den Linien der Interferenzsäume umgeben, ein untrügliches Kennzeichen, dass eine im Verhältnisse zur Stärke des Lichtes zu kleine Beleuchtungsöffnung bei der Untersuchung und vermuthlich auch bei der maassgebenden Beobachtung gebraucht ist. Ein jeder Mikroskopiker weiss, dass, je enger die Beleuchtungsblende ist, um so dunkler und breiter die Contouren der Gegenstände erscheinen, und dass, wenn das Licht zu gleicher Zeit sehr intensiv ist, z. B., wie es wahrscheinlich bei Lewis der Fall gewesen ist, Sonnenlicht gebraucht wird, sofort die dunklen und breiten Ränder des Gegenstandes von den durch Interferenz entstehenden Farbensäumen umgeben werden. Weiter ist aber auch jedem mit den neueren Untersuchungsmethoden vertrauten Mikroskopiker bekannt, dass man gefärbte Bacterien nicht mit engen Blenden, sondern im Gegentheil mit möglichst weiten beleuchtet, unter Umständen die Blende ganz weglässt und diffuses Licht anwendet, um die Farbenwirkung vollständig auszunutzen und ganz scharfe, reine Umrisse zu sehen. So sind auch meine Photogramme unter Anwendung diffuser Beleuchtung gemacht und man wird nicht die geringste Spur von Interferenzlinien auf denselben bemerken. Lewis hat also auf meinen Photogrammen den wahren Durchmesser der Spirochäten, auf seinen zugleich noch den breiten Interferenzsaum mitgemessen. Hätte er nur eine Zeichnung veröffentlicht, auf der bekanntlich Interferenzlinien nicht wiedergegeben werden, dann wäre der Irrthum vielleicht niemals aufgeklärt.**)

Auch in einem anderen Punkte ist mir erst durch die Photographie Klarheit entstanden. Wenn ich in den Publicationen von Letzerich Beschreibungen von Plasmazellen, Plasmakugeln, ausschwärmenden Mikrokokken u. s. w. fand, so konnte ich mir beim besten Willen keine Vorstellung davon machen, was Letzerich eigentlich damit gemeint und was er gesehen hatte, bis die photographischen Abbildungen zu seiner Arbeit über morphologische Unterschiede von Schistomyceten erschienen.***) Ein Blick auf diese Photographien lehrt sofort,

---

*) *The microscopic organisms found in the blood of man and animals.* Calcutta 1879.

**) Zum Ueberfluss will ich noch bemerken, dass ich Gelegenheit hatte, auch echte indische Recurrensspirochäten, die ich von Dr. Caster aus Bombay erhalten habe, nach meiner Weise zu photographiren (Tab. IV Phot. 21), und da zeigen sie sich in der That als völlig identisch mit den europäischen.

***) Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie, Band 12 Heft 5.

dass die Plasmazellen und Kugeln ganz gewöhnliche heranwachsende Mikrokokkenkolonien sind, die sich in Hausenblasengallerte befinden, also längere Zeit in einer geschlossenen Masse bleiben, als wenn sie in einer Flüssigkeit wären. Schliesslich verflüssigt sich die Gallerte und der Mikrokokkenhaufen fällt auseinander (schwärmt).

Ueber die Zürn'schen Photographien*) hatte ich schon früher Gelegenheit, mich zu äussern. Sie leiden fast an allen Fehlern, welche bei Mikrophotographien vorkommen können, denn sie entbehren jeder Schärfe, sind grösstentheils gar nicht einmal richtig eingestellt, haben sehr ausgeprägte Interferenzlinien und, was am meisten zu rügen ist, sie sind zum Theil retouchirt. Dennoch sind mir diese unvollkommenen Photographien immer noch unendlich mehr werth, als die schönste Zeichnung. Zürn's Photographien lehren auf den ersten Blick, was von seinen Angaben über Milzbrand, milzbrandartige Krankheiten und die dabei vorkommenden Bacillen zu halten ist. Trotzdem Zürn behauptet, dass die Milzbrandbacillen keine charakteristische Form hätten, so sind selbst an den verschwommenen Bildern der Milzbrandbacillen auf Zürn's Photographien sofort und ganz unverkennbar die wirklichen Milzbrandbacillen von anderen Bacillen zu unterscheiden. Wer sich der Mühe unterziehen will, meine Photogramme (Cohn's Beiträge, Bd. 2 Heft 3 Taf. XVI No. 5 und 6) mit den Zürn'schen zu vergleichen, der wird sofort in der Zürn'schen Figur 4 auf Taf. II die Milzbrandbacillen und in Zürn's Figur 2 und 4 der Taf. I, welche angeblich gleichfalls Milzbrandbacillen sein sollen, die auf meinen Photogrammen No. 6 abgebildeten Fäulnissbacillen erkennen. Bei der Beschreibung dieses letzteren Photogramms habe ich schon damals auf die Gefahr einer Verwechselung dieser einander ähnlichen, aber doch, wie man hier wieder sieht, mit Sicherheit von einander zu unterscheidenden Bacillen aufmerksam gemacht. Dass jene Warnung gerechtfertigt war, beweist der Zürn'sche Fall; ich kann sie deshalb nur wiederholen und ausserdem bezüglich weiterer Details über diesen Gegenstand auf die nachfolgenden Arbeiten über Milzbrand und Septicämie verweisen.

Wie nothwendig die Photographie zur Illustration von Publicationen über Infectionskrankheiten ist, sei noch an einem Beispiel erläutert.

Semmer**) hat die Wissenschaft durch zahlreiche Mittheilungen über pathogene Bacterien, die er bei Hundswuth, Staupe, Septicämie, Rinderpest, Rotz, Typhus gefunden haben will, bereichert. Was soll man nun aber von Semmer's Angaben halten, wenn man die Abbildungen seiner pathogenen Bacterien, die zu der citirten Abhandlung gehören, betrachtet. Ich will durchaus nicht behaupten, dass Semmer überhaupt keine Bacterien vor sich gehabt hat, obgleich seine Figuren ebensogut alles Andere als Bacterien vorstellen können, aber was das für Bacterien gewesen und ob dieselben wirklich als pathogene zu beanspruchen sind, das scheint mir doch mindestens zweifelhaft, namentlich, wenn man die Bacterien der Hundswuth mit denen der Wuth beim Rinde und die Milzbrandbacterien, welche fast wie Zahnspirochäten aussehen, mit den Staupe- und Typhusbacterien vergleicht.

Nach dem Gesagten und im Hinblick auf das, was ich über die Untersuchungen von Fokker und die Abbildungen Semmer's mittheilte, denen ich noch manch Aehnliches beifügen könnte, wird es mir gewiss Niemand verargen, wenn ich mich gegen jede Bacterienzeichnung, die ich nicht am Präparat auf ihre Richtigkeit prüfen kann, im höchsten Grade skeptisch verhalte und ich kann nicht dringend genug an Alle, die auf diesem Gebiete arbeiten, die Aufforderung richten, ihre Entdeckungen mit photographischen Abbildungen als Beweisstücken zu belegen. Damit soll nicht gesagt sein, dass die Photographie jede Zeichnung verdrängen solle, das kann und wird sie niemals, und die Zeichnung wird in vielen Fällen unersetzlich sein. Aber wo die Photographie anwendbar ist, und das ist sie, wie die Erfahrung gelehrt hat, für Mikroorganismen fast ausnahmslos, da muss sie im Interesse der Sache zur vollen Geltung gebracht werden.

*) l. c.

**) Virchow's Archiv, Bd. 70 S. 371.

Wer sich auf das allerdings schon etwas schwierigere Photographiren von Schnittpräparaten nicht einlassen will oder kann, der möge einfache Deckglaspräparate von den ihn beschäftigenden Mikroorganismen herstellen, wie sie aus dem Blute ebensogut wie aus dem Gewebssafte eines jeden beliebigen Organes leicht zu gewinnen sind, und selbst photographiren oder photographiren lassen. Dabei ist jedoch nie aus dem Auge zu lassen, dass die Photographie den Gegenstand so wiedergeben soll, wie er bei der gewöhnlichen Art und Weise des Mikroskopirens erscheint. Es muss also die Beleuchtung genau derjenigen entsprechen, die auch sonst für die vortheilhafteste zum Beobachten des fraglichen Objectes erkannt ist. Wenn die Zeichnung auf Diatomaceenschalen im directen Sonnenlicht und bei schiefer Beleuchtung am besten zu sehen ist, dann wird sie auch unter denselben Beleuchtungsverhältnissen am besten zu photographiren sein. Gefärbte Bacterien untersucht aber Niemand in directem Sonnenlichte, also soll man sie auch nicht in solchem photographiren.

Um von gefärbten Objecten gute Photographien zu erhalten, müssen vor Allem drei Bedingungen erfüllt werden. Das Präparat muss in den Theilen, welche auf dem Bilde besonders hervortreten sollen, z. B. Bacterien, Zellenkernen, möglichst intensiv mit einer solchen Farbe imprägnirt sein, die das blaue Licht nicht durchlässt und auf die lichtempfindliche Schicht also ebenso wie eine alles Licht absorbirende schwarze Farbe wirkt, und das sind vorwiegend gelbe und braune Farben. Die richtige Auswahl der Farben lässt sich sofort beurtheilen, wenn das gefärbte Präparat in monochromatischem blauen Lichte, z. B. in solchem Lichte, welches eine Lösung von Kupferammoniak passirte, betrachtet wird, dann müssen die Zellenkerne, Bacterien u. s. w. mehr oder weniger kräftig schwarz auf blauem Grunde erscheinen.

Starke Vergrösserungen können nur mit Hülfe von Sonnenlicht erzielt werden, doch ist aus den mehrfach auseinander gesetzten Gründen das unmittelbar auf das zu photographirende Object projicirte Sonnenlicht für unsere Zwecke nicht vortheilhaft und es muss deswegen durch eine oder mehrere matte Scheiben zerstreut werden.

Das dritte Erforderniss ist eine derartige Construction des Condensors oder Beleuchtungsapparates, dass das zerstreute Sonnenlicht in einem möglichst breiten Lichtkegel das Object von allen Richtungen her hell beleuchtet und das Structurbild nicht zur Geltung kommen lässt. Im Grunde genommen sind dies dieselben Bedingungen, welche zur Erzielung des optisch am besten erscheinenden Bildes angewendet werden, und nur wer für die Photographie nicht das geringste Verständniss hat, kann darin etwa besondere Kunstgriffe argwöhnen, mit Hülfe deren sich mehr photographiren liesse, als in Wirklichkeit vorhanden ist. Aber auch bei der weiteren Behandlung der Negative und der Herstellung der Abdrücke vergesse man nie, dass das photographische Bild nicht allein eine Illustration, sondern in erster Linie ein Beweisstück, gewissermaassen ein Document sein soll, an dessen Glaubwürdigkeit auch nicht der geringste Zweifel haften darf. Also würde jede und sei es auch die unbedeutendste Retouche des Negativs oder des Abdruckes demselben seinen ganzen Werth rauben. Es ist das eigentlich so selbstverständlich, dass man kaum ein Wort darüber verlieren sollte. Aber weil dennoch retouchirte Mikro-Photographien veröffentlicht wurden, so war es nothwendig, diesen Punkt zur Sprache zu bringen und ein für alle mal gegen die Verwerthung retouchirter Negative auf das Energischste zu protestiren.

Die hohe Bedeutung, welche die Mikro-Photographie in meinen Augen hat, veranlasste mich, dieselbe möglichst für meine Untersuchungen nutzbar zu machen, und nachdem es gelungen war, die am Deckglas angetrockneten Bacterien zu photographiren, auch die noch in den Geweben lagernden Bacterien, also in Schnittpräparaten, ebenso abzubilden. Da es nicht ganz leicht ist, eine gute braune Kern- und Bacterienfärbung zu erzielen, so ging mein Bestreben anfangs dahin, vermittelst Trockenplatten und eingeschalteter entsprechend farbiger Gläser blau und roth gefärbte Präparate zu photographiren. Doch musste dieses Vorhaben nach vielen vergeblichen Versuchen aufgegeben und das andere an den Deckglaspräparaten schon bewährte Verfahren, die Objecte braun

zu färben, aufgenommen werden. In manchen Fällen giebt dasselbe ausgezeichnete Resultate, in anderen wieder lässt es der Blau- oder Rothfärbung gegenüber noch viel zu wünschen übrig und bedarf noch der Verbesserung. Um aber eine Anschauung von dem zu geben, was sich auf diesem Gebiete vorläufig leisten lässt, werde ich im Anschlusse an diese Arbeit aus meiner Sammlung von Negativen eine Anzahl von Beispielen veröffentlichen, die nicht allein als Photogramme, sondern zugleich auch durch den Gegenstand, den sie darstellen, das Interesse zu beanspruchen geeignet sein dürften.

Uebertragbarkeit der pathogenen Mikroorganismen. Durch die bisher besprochenen Verfahren wird überhaupt das Vorhandensein der Mikroorganismen im thierischen Körper nachgewiesen und wenn die Untersuchung ergeben hat, dass die Parasiten in grosser Menge vorhanden sind, oder dass sie Reizzustände, Nekrose u. s. w. der betroffenen Gewebe veranlasst haben, dann wird dadurch ihre pathogene Eigenschaft festgestellt. In zweiter Linie interessirt uns nun aber die Frage, ob die als pathogen erkannten Mikroorganismen auch infectiös, von einem Körper auf den anderen übertragbar, sind. Die beiden Begriffe pathogen und infectiös dürfen nicht miteinander verwechselt werden. Man kann sich recht gut Organismen vorstellen, welche im Stande sind, in den thierischen Körper einzuwandern und denselben krank zu machen, also pathogen sind, aber nicht die Fähigkeit besitzen, unmittelbar von einem Körper auf einen anderen überzugehen und diesen ebenfalls krank zu machen, zu inficiren. Vorausgesetzt, dass Intermittens eine Bacterienkrankheit ist, was allerdings noch weiterer Beweise bedarf, dann würde sie ein vortreffliches Beispiel für die Existenz eines pathogenen aber nicht infectiösen Mikroorganismus abgeben. Die Eigenschaften pathogen und infectiös decken sich also nicht, und wenn ein Parasit als pathogen erkannt ist, dann muss ausserdem noch experimentell bestimmt werden, ob er zugleich übertragbar ist oder nicht. Das hierzu dienende Verfahren wird sich, wenn es sich den Erfolg sichern will, möglichst an die in der Natur vorkommenden Verhältnisse anschliessen müssen, eine Regel, die in den ersten Zeiten der experimentellen Bearbeitung der Infectionskrankheiten und vielfach auch noch heutzutage ausser Acht gelassen wurde. In der primitivsten Weise hat man versucht, Krankheiten, die bisher nur beim Menschen beobachtet sind, auf Hunde, Katzen, Kaninchen und Meerschweinchen zu übertragen und Aehnliches. Allmälig hat indessen die Erfahrung gelehrt, dass es durchaus nicht gleichgültig ist, welche Thierspecies zu den Infectionsversuchen gewählt wird und dass überdies die Art und Weise der Uebertragung vom grössten Einfluss auf das Gelingen des Experimentes ist. Alle diese Verhältnisse eingehend zu behandeln, würde hier zu weit führen, und es können nur die wesentlichsten Gesichtspunkte kurz hervorgehoben werden, um die Grundsätze zu kennzeichnen, nach denen bei unseren Arbeiten verfahren wurde.

Was die Wahl der Versuchsthiere betrifft, so ist es zweckmässig, zunächst Thiere derselben Art zu nehmen, wie die, von denen das Infectionsmaterial herstammt. Nur wenn sich dies nicht ausführen lässt, sind verwandte Arten zu gebrauchen. Handelt es sich um menschliche Infectionskrankheiten, dann ist gleichfalls auf die dem Menschen nächststehenden Thiere, die Affen, zu greifen, wie das schlagende Beispiel von Recurrens lehrt, der sich bislang auf keine andere Thierspecies als auf Affen, auf diese aber mit Leichtigkeit und Sicherheit, übertragen lässt. Bei der Uebertragung des Infectionsstoffes auf Individuen der gleichen oder verwandten Arten darf das Experiment aber nicht stehen bleiben: es ist im Weiteren die Reaction möglichst vieler verschiedener Thierarten gegen den Infectionsstoff zu prüfen. Man wird dabei ganz eigenthümlichen, für das Studium der betreffenden Infectionskrankheit wichtigen Abweichungen in der Wirkungsweise der parasitären Organismen begegnen. Es giebt Thierarten, die in der promptesten Weise und ausnahmslos auf den ihnen beigebrachten Ansteckungsstoff reagiren; andere wieder verhalten sich mehr oder weniger immun dagegen. Auch in Bezug auf die Verbreitung im Thierkörper finden sich Verschiedenheiten; denn dieselben Bacterien, die bei einer Thierspecies sofort eine tödtliche Allgemeinkrankheit bewirken, können bei einer anderen eine local beschränkte nicht tödt-

liche Affection hervorrufen. Höchst lehrreiche Beobachtungen lassen sich bei solchen Versuchen anstellen über die ausserordentliche Empfindlichkeit der pathogenen Bacterien gegen den Nährboden, auf dem sie zu gedeihen vermögen, oder den sie verschmähen. Innerhalb derselben Thierklasse, z. B. bei den Nagethieren, gelingt die Infection bei einigen, bei anderen wieder nicht. Bei einer früheren Gelegenheit konnte ich auf ein sehr auffallendes Beispiel dieser Art hinweisen, auf das leichte Gelingen der Infection der Hausmäuse mit den kleinen Bacillen der Mäusesepticämie, während es nicht möglich war, eine Feldmaus durch denselben Parasiten zu tödten. Das klingt ganz paradox, und dennoch ist diese Thatsache durch vielfache Experimente festgestellt und später durch zahlreiche ähnliche Beobachtungen auf andere Fälle ausgedehnt. Um nur einige herauszugreifen, so sind Mäuse so empfindlich für Milzbrandinfection, dass sie als ein ganz sicheres Reagens auf die Wirksamkeit der Milzbrandbacillen gebraucht werden können. Ratten dagegen sind gegen Milzbrand mehr oder weniger immun. Die Septicämie der Kaninchen tödtet Kaninchen und Mäuse mit absoluter Sicherheit, Meerschweinchen und Ratten lässt sie unberührt, lässt sich aber noch auf Sperlinge und Tauben sehr leicht übertragen. Sehr merkwürdig ist in dieser Beziehung auch das verschiedene Verhalten von Thieren derselben Gattung, aber von verschiedenem Alter, was ganz besonders bei den Milzbrandinfectionen schon mehrfach beobachtet und von verschiedenen Autoren erwähnt ist. Sehr junge Hunde sind anscheinend ziemlich leicht mit Milzbrand zu inficiren, alte fast gar nicht. Aehnlich verhalten sich die Ratten zum Milzbrand. Dasselbe kehrt bei der Mäusesepticämie wieder, welche, auf ganz junge Kaninchen verimpft, eine Allgemeininfection bewirkt, ganz wie bei Mäusen, und die Thiere tödtet, bei älteren Thieren nur eine Localaffection hervorzubringen vermag. Eine eingehendere Besprechung dieser höchst interessanten Verhältnisse wird in den hierauf bezüglichen Arbeiten gegeben werden. An dieser Stelle wollte ich sie nur erwähnen, um zu zeigen, wie wichtig eine richtige Auswahl der Versuchsthiere ist. Vornehmlich gilt das von den augenblicklich so sehr in den Vordergrund gedrängten Immunitätsversuchen, und es braucht nach dem Vorhergesagten wohl nur einer Andeutung, welche Irrthümer entstehen können, wenn bei solchen Versuchen junge und alte Thiere unter einander gemischt ohne weiteres Bedenken Infectionsversuchen unterworfen werden, gegen welche die älteren Thiere möglicherweise an sich schon immun waren.

Die besondere Vorliebe der pathogenen Bacterien für bestimmte Thierspecies erinnert an das ähnliche Verhalten der Parasiten überhaupt, die oft in der eigensinnigsten Weise sich auf eine einzige Art von Pflanzen oder Thieren als ihren Wirth beschränken. Für die höher organisirten Parasiten sind dies so bekannte Thatsachen, dass sie fast als selbstverständlich hingenommen werden. Deswegen wird auch Niemandem einfallen, beispielsweise mit Bandwürmern in Wasser Züchtungsversuche anzustellen, weil Verwandte der Bandwürmer im Wasser leben. Ist es denn aber nicht fast dasselbe Unternehmen, wie Bandwurmzucht im Wasser, wenn, wie man noch tagtäglich zu hören und zu lesen bekommt, Züchtungsversuche mit den empfindlichsten Mikroparasiten ganz stereotyp in Cohn'scher oder Pasteur'scher Nährlösung gemacht werden? Nicht genug ist Allen, welche Culturversuche mit pathogenen Organismen anstellen wollen, die Berücksichtigung dieser Verhältnisse anzurathen.

Eine nicht geringere Beachtung verdient die Art und Weise, in welcher die Uebertragung des Infectionsstoffes ausgeführt wird.

Das am meisten geübte Verfahren ist die Impfung. Wir sind gewöhnt, unter Impfung eine sehr kleine oberflächliche Verletzung der Oberhaut mit nachfolgender Application des Impfstoffes zu verstehen, und es ist dem entsprechend schon keine eigentliche Impfung mehr, wenn die Verletzung die Oberhaut durchdringt und sich in das subcutane Gewebe erstreckt. In der Neuzeit scheint man aber den Begriff Impfung nicht mehr so eng zu begrenzen, man nennt jetzt alles Mögliche Impfung, und besonders stark sind die französischen Experimentatoren darin, unter dem Ausdruck Vaccination die verschiedensten Arten der subcutanen,

intravenösen und anderer Methoden der Uebertragung zu subsummiren. Eine solche Begriffserweiterung würde nichts auf sich haben, wenn sie nicht zugleich eine Begriffsverwirrung wäre, wie in diesem Falle; denn diese verschiedenen Arten der Uebertragung von Infectionsstoffen sind durchaus nicht in ihrem Effect gleichartig. Eine Impfung kann unter Umständen, wie das in einer anderen Arbeit zur Sprache kommende Beispiel der Bacillen des malignen Oedems (der sogen. *Vibrions septiques*) lehrt, auch bei Verwendung desselben Materials eine ganz andere Wirkung haben, als eine subcutane Injection. Auch auf die Menge des einverleibten Infectionsstoffes wird meistens viel zu wenig Gewicht gelegt. Nur wenn ganz geringe Quantitäten zur Verwendung kommen, kann die störende Nebenwirkung gelöster, chemisch wirkender Stoffe, die eine Intoxication anstatt der beabsichtigten Infection hervorrufen könnten, vermieden werden. Allerdings giebt es auch pathogene Bacterien, die in grösserer Menge applicirt werden müssen, um Wirkungen damit hervorzubringen. Um so mehr ist es geboten, bei Uebertragungsversuchen nach einander die allerverschiedensten Verfahren in Anwendung zu ziehen, aber auch bei der Beschreibung des Experimentes niemals die genaue Angabe des Infectionsmodus, ob einfache Impfung, ob subcutane Injection, Transplantation u. s. w., zu unterlassen.

Wenn in den nachfolgenden Arbeiten von Impfung die Rede ist, dann handelt es sich immer nur um eine wirkliche Impfung. Sobald irgend ein anderes Verfahren angewendet wurde, ist dasselbe so bezeichnet, dass über die Art der Uebertragung kein Zweifel bleiben kann. Ueber einige Infectionsverfahren habe ich noch ein paar kurze Bemerkungen zu machen.

An Mäusen ist eine wirkliche Impfung kaum ausführbar, höchstens gelingt am Ohr eine so minimale Verletzung, dass sie einer rein cutanen Verletzung gleich zu setzen ist. Jeder nur einigermaassen kräftige Einschnitt in die Haut dringt schon in das subcutane Gewebe und sollte eigentlich als subcutane Application bezeichnet werden. Auf keinen Fall ist es noch als einfache Impfung anzusehen, wenn man, wie es z. B. zur Untersuchung der Erde auf Infectionsstoffe unter Umständen erforderlich ist, eine taschenförmige Hautwunde anlegt und in diese das Infectionsmaterial bringt. In diese selbe Kategorie würde die Infection durch subcutan beigebrachte Bandstückchen und ähnliche Verfahren gehören, auf die ich noch bei einer anderen Gelegenheit zurückkommen werde.

Selbstverständlich müssen alle bei dem Infectionsversuche gebrauchten Instrumente einer zuverlässigen Desinfection unterworfen werden, die nach meinen Erfahrungen in diesem Falle nur durch längeres Erhitzen auf 150 ° C. und darüber erreicht werden kann. Oft liest man, dass mit Alkohol, Carbolsäure und dergleichen desinficirt wurde. Aber wie unzuverlässig diese Substanzen sind, geht aus den später zu beschreibenden Desinfectionsversuchen mit Milzbrandsporen hervor. Es bleibt also nichts übrig, als durch hohe Hitzegrade zu desinficiren. Für manche Instrumente, Messer, Nadeln u. s. w. bietet das gar keine Schwierigkeiten, sie werden einfach ausgeglüht. Aber etwas umständlicher ist die Desinfection der zur subcutanen Injection gebrauchten Spritzen. Die gewöhnlichen, selbst aus Metall und Glas construirten Spritzen werden durch eine mehrstündige Temperatur von 150 ° C. ganz unbrauchbar und geringere Hitzegrade genügen zur sicheren Desinfection durchaus nicht. Ich kann mich der Meinung nicht verschliessen, dass an diesem Hinderniss manches Experiment gescheitert und manches unerklärliche Resultat von subcutanen Injectionen auf eine ungenügende Desinfection der Spritzen zurückzuführen ist. Zu unseren Infectionsversuchen wurden deswegen, um jedem solchen Einwande zu begegnen, besonders construirte Spritzen gebraucht. An denselben ist die Metallfassung mit dem Glascylinder durch ein in das Glas eingeschliffenes Schraubengewinde verbunden und diese Verbindung durch ein durchbohrtes Korkplättchen dicht gemacht, welches letztere, sobald es erforderlich ist, gewechselt wird. Der Stempel wird durch Faden und Watte so lange umwickelt, bis er vollkommen schliesst. Vor jedem Gebrauche wird die Spritze in einem Trockenkasten ein oder mehrere Stunden auf 150 ° C. erhitzt und dann der Stempel mit

im Dampfkochtopf sterilisirtem destillirten Wasser angefeuchtet. Bei diesen Maassregeln ist eine Verschleppung des Infectionsstoffes von einem zum anderen Experimente durch die Spritze ganz unmöglich.

Für alle Fälle, in denen die locale Wirkung des Infectionsstoffes beobachtet werden soll, sind Impfungen am Ohr, auf der Cornea und Transplantationen in die vordere Augenkammer besonders vortheilhaft. Eine specielle Beschreibung der hierbei üblichen Verfahren, scheint mir, da sie schon fast überall eingebürgert sind, nicht erforderlich.

Die künstliche Infection durch Inhalation ist mehrfach versucht, aber leider bis jetzt noch kein einwurfsfreies Verfahren dafür gefunden. Bei Inhalation durch Trachealfisteln blieb die Infection von der Trachealwunde, bei der Inhalation durch Mund oder Nase das gleichzeitige Verschlucken des Infectionsstoffes und bei der von Buchner ausgeübten Einstäubung des ganzen Thieres die Infection von irgend einer kleinen Verletzung am Körper nicht ausgeschlossen. Es wäre sehr erwünscht, wenn für diesen Infectionsweg recht bald ein zuverlässiges Verfahren entdeckt würde.

Bei allen Infectionsversuchen sollte es zu einer unerlässlichen Bedingung gemacht werden, dass man sich nicht auf einen einzigen Versuch beschränkt und es niemals an den erforderlichen Controlversuchen fehlen lässt. Wie oft begegnet man noch Angaben, dass irgend eine verdächtige Substanz oder Flüssigkeit einem Thiere eingeimpft oder subcutan eingespritzt wurde, dass das Thier erkrankte, möglicherweise auch starb, und es gilt dann als ganz selbstverständlich, dass der Tod in Folge der Impfung und auch der fraglichen Infectionskrankheit eingetreten sei. Und doch liegt es auf der Hand, dass ein einziges solches Experiment so gut wie gar nichts beweist. Zunächst muss nachgewiesen werden, dass der einmalige Erfolg nicht ein scheinbarer oder zufälliger war, und dass die Impfung auch jedesmal oder doch in einer solchen Anzahl von Fällen Krankheit oder Tod der Versuchsthiere bewirkt, dass jeder Zufall ausgeschlossen ist. Dann aber, und darauf muss ich ganz besonderen Werth legen, weil hiergegen schon sehr oft gefehlt ist, muss unter allen Umständen erst noch der Nachweis geliefert werden, dass es sich überhaupt um einen wirklichen Infectionsstoff handelt. Damit, dass irgend ein Stoff, wenn er subcutan oder intravenös applicirt oder in die Bauchhöhle oder sonstwie dem Körper zugeführt wird, eine pathogene Wirkung äussert, ist seine infectiöse Eigenschaft noch nicht im Mindesten erwiesen. Aehnliche Wirkungen können auch nicht organisirte, lösliche Substanzen äussern. Erst wenn die Uebertragung von einem Individuum auf andere vermittelst solcher Quantitäten des Impfstoffes gelingt, dass damit seine Reproduction, seine Vermehrung in dem erkrankten Körper nachgewiesen ist, erst dann kann diese Substanz als infectiös angesehen werden. Es folgt also daraus, dass, wer beweisen will, dass er mit einem Infectionsstoffe experimentirte, es unmöglich bei einem Versuche bewenden lassen kann, sondern eine mehr oder weniger lange Reihe von fortlaufenden Uebertragungen, von einem Versuchsthiere auf das zweite, von diesem auf das dritte u. s. w. ausführen muss, wenn er sich nicht dem berechtigten Einwande aussetzen will, dass er es gar nicht mit einer Infectionskrankheit, sondern mit einer Intoxicationskrankheit zu thun gehabt habe.

Reincultur. Nachdem das Vorhandensein der pathogenen Mikroorganismen im thierischen Körper, nachdem ferner ihre Reproductionsfähigkeit im Körper und ihre Uebertragbarkeit auf andere Individuen festgestellt, bleibt noch die wichtigste und die gerade die Hygiene am meisten interessirende Aufgabe, ihre Lebensbedingungen zu erforschen. Wie schon im Eingange dieser Arbeit hervorgehoben wurde, ist diese Aufgabe nur mit Hülfe der Reincultur zu lösen und deswegen ist es nicht zu viel gesagt, dass in der Reincultur der Schwerpunkt aller Untersuchungen über Infectionskrankheiten liegt.

Weil man die Wichtigkeit der Reincultur schon längst begriffen, so haben sich Alle, welche auf dem Gebiete der Infectionskrankheiten forschen, die erdenklichste Mühe gegeben, die Methoden der Reincultur zu vervollkommnen. Die Resultate der neueren und neuesten

Arbeiten beweisen aber auf das evidenteste, dass man über die ersten schwachen Versuche nicht weit hinaus gekommen ist. Man hat höchstens gelernt, die allergröbsten Irrthümer abzustreifen und auch diese nicht einmal immer.

Das Wesentliche der Reincultur, wie sie derzeit gehandhabt wird, lässt sich ungefähr in folgender Weise zusammenfassen.

In ein desinficirtes Gefäss, das mit desinficirter Watte „pilzdicht" verschlossen ist, wird eine sterilisirte passende Nährflüssigkeit gebracht und diese mit der Substanz, welche die rein zu cultivirenden Mikroorganismen enthält, „geimpft". Aus dem ersten Gefässe kann, wenn eine Vermehrung derselben stattgefunden hat, die Weiterimpfung vermittelst desinficirter Instrumente auf ein zweites ebenso präparirtes Gefäss ausgeführt werden u. s. w. Kurz, es ist fast der nämliche Vorgang wie bei Fortpflanzung einer Infectionskrankheit von einem Thiere auf ein anderes.

Es werden selbstverständlich dabei einige Voraussetzungen gemacht und zwar erstens, dass das Culturgefäss wirklich desinficirt ist. Aber wie harmlos man sich dieses Desinficiren mitunter vorgestellt hat, beweist der Streit Pasteur's und Bastian's über die Urzeugung und die bekannte Frage des ersteren an letzteren: „*Flambez-vous vos vases avant de vous en servir?*"*), welche von Bastian verneint werden musste.

Zweitens, dass die desinficirte Watte auch in der That pilzdicht schliesst, was nach den Untersuchungen von Naegeli**) nicht als für alle Fälle gültig anzunehmen ist.

Drittens, dass die Nährflüssigkeit zu gleicher Zeit passend und sterilisirt ist. Was unter einer passenden Nährflüssigkeit zu verstehen und dass dieselbe nicht immer so leicht zu beschaffen ist, darüber habe ich mich schon früher ausgesprochen. Hier soll von der Annahme ausgegangen werden, dass eine passende Nährlösung gefunden und dieselbe nur noch zu sterilisiren sei. Mit welchen Schwierigkeiten und welchen Gefahren für das Gelingen des Experimentes diese Arbeit verknüpft ist, kennt Jeder, der mehrfach Gelegenheit gehabt hat, mit Heuinfus, Fleischextract- oder Malzextractlösungen als Nährflüssigkeiten zu arbeiten. Kleine Quantitäten solcher und ähnlicher Nährlösungen lassen sich in geeigneten Apparaten ziemlich sicher sterilisiren, aber wie schwierig es wird, grössere Mengen derselben frei von entwickelungsfähigen Bacterienkeimen zu machen, das ist aus einigen Versuchsreihen zu ersehen, welche in der Arbeit über Desinfection mit Wasserdämpfen beschrieben sind (vergl. diese Veröffentlichung).

Viertens, dass die Impfsubstanz keine anderen als die rein zu cultivirenden Mikroorganismen enthält. Wenn auch nur eine sehr geringe Verunreinigung der Impfsubstanz mit einer sich schneller vermehrenden Art von Organismen besteht, als diejenigen sind, welche rein cultivirt werden sollen, kann niemals, wie Buchner treffend nachgewiesen hat, die beabsichtigte Reincultur gelingen. Buchner hat sich deswegen, um ein reines Ausgangsmaterial für seine Versuche mit Milzbrandbacillen zu gewinnen, einer eigenthümlichen Methode bedient. Er inficirte die Nährlösungen mit so weit verdünnter Milzbrandsubstanz, dass nach ungefährer Berechnung nur ein Bacillus in das Culturgefäss kam, und schloss dann aus dem charakteristischen makroskopischen Aussehen der sich entwickelnden Cultur, dass die Reincultur gelungen sei. Nun werde ich aber später zu zeigen haben, dass es Bacillen giebt, die in Nährflüssigkeiten sich makroskopisch genau so entwickeln wie die Milzbrandbacillen, und wenn sie zufällig mit letzteren vermischt vorkämen, durch das Buchner'sche Verfahren nicht zu unterscheiden sein würden. Ganz unmöglich würde sich dies Verfahren auf solche Bacterien anwenden lassen, die in der Nährlösung keine charakteristischen Formen erkennen lassen, sondern vielleicht nur eine einfache Trübung, wie so viele andere Bacterien auch, bewirken. Die Schwierigkeit, ein vollständig reines Material zur Aussaat zu beschaffen, bleibt also für

---

*) *Bulletin de l'Académie de méd.*, 1879 p. 1230.

**) Ueber die Bewegungen kleinster Körperchen, 1879.

die grosse Mehrzahl der Fälle bestehen und wird für dieselben mit den jetzt üblichen Methoden der Reincultur überhaupt nicht zu beseitigen sein.

Fünftens, dass bei der ersten Impfung und ebenso bei jeder folgenden Weiterimpfung keine Keime von fremden Organismen aus der Luft in die Culturflüssigkeit gerathen; eine Gefahr, gegen die der Experimentirende, auch wenn er den schützenden Wattepfropf nur ganz kurze Zeit lüftet, niemals mit Sicherheit seine Reinculturen bewahren kann. Wenn die erste, zweite und dritte Umzüchtung auch noch gelungen sind, so wächst doch mit der Zahl der Weiterimpfungen die Wahrscheinlichkeit, dass einmal eine Verunreinigung der Cultur eintreten wird. Um dieser Eventualität so viel als möglich zu begegnen, setzt man gewöhnlich die Reincultur gleichzeitig in mehreren Proben fort und impft nur von derjenigen weiter, die, wie der Augenschein oder eine mikroskopische Prüfung lehrt, rein geblieben ist. Leider kann man sich aber auch darauf nicht verlassen. Denn wie unsicher die makroskopische Unterscheidung von derartigen Culturen ist, habe ich schon oben angegeben, und die mikroskopische kann immer nur Auskunft darüber geben, ob das Tröpfchen, welches als Probe entnommen und zwischen Objectträger und Deckglas gebracht wurde, von fremden Beimischungen frei ist, und auch selbst, wenn in diesem Tröpfchen schon vereinzelte andere Mikroorganismen vorhanden sind, wie soll man sie unter der Menge der Reingezüchteten mit Sicherheit herausfinden. Gerade die ersten Anfänge der Verunreinigung lassen sich also weder makroskopisch noch mikroskopisch unzweifelhaft erkennen, und wenn nun zufällig die Weiterimpfung von einer solchen vermeintlich reinen aber in Wirklichkeit schon unreinen Cultur gemacht wird und die eingedrungenen Organismen den gezüchteten in der Entwickelungsfähigkeit überlegen sind, dann ist die weitere Reincultur unrettbar verloren; schon in der nächsten Generation wird das Mikroskop kaum noch einen Zweifel über die Verunreinigung lassen, aber diese Einsicht kommt zu spät, weil es unmöglich ist, die nun schon massenhaft vorhandenen ungebetenen Gäste wieder los zu werden.

Um einigermaassen Sicherheit bei der Durchführung einer längeren Reihe von Reinculturen in Nährlösungen zu gewinnen, giebt es nach meiner Erfahrung nur ein Auskunftsmittel, dessen ich mich auch bei meinen früheren Versuchen und namentlich bei den Untersuchungen über die Entwickelung der Milzbrandbacillen bedient habe. Es besteht dasselbe darin, die Menge der Culturflüssigkeit auf ein so geringes Maass zu beschränken, dass sie in ihrem ganzen Umfange mit dem Mikroskope übersehen und auf die Reinheit controlirt werden kann. Die Ausführung geschieht in der Weise, dass eine Anzahl von Glaszellen, die aus einem hohlen Objectträger und Deckglas gebildet werden, mit einem Tröpfchen Nährlösung versehen werden, und zwar befindet sich die Flüssigkeit an der Unterseite des Deckglases und muss zu einer recht flachen Schicht ausgebreitet sein, damit sie mit dem Mikroskope auch bei einer Vergrösserung, wie sie zur Bacterienuntersuchung erforderlich ist, noch vollständig übersehen werden kann. An den Rand der Nährflüssigkeit wird dann die Aussaat gebracht und die Weiterentwickelung und das Reinbleiben der Cultur von Zeit zu Zeit mit dem Mikroskope verfolgt. Wenn die Beschickung der Glaszellen und die Impfung mit einiger Geschicklichkeit und nicht zu langsam gemacht wird, dann kann man mit Bestimmtheit darauf rechnen, dass mindestens die Hälfte, meistens noch mehr von den angesetzten Culturen rein geblieben und zur Weiterzüchtung geeignet sind. Leider lässt dieses Verfahren, das für Culturen der leicht kenntlichen Milzbrandbacillen sich gut bewährt, ebenfalls im Stich, wenn sehr kleine und wenig charakteristisch geformte Mikroorganismen rein cultivirt werden sollen. Weitere Mängel dieses Verfahrens sind, dass den zu cultivirenden Organismen nur ein geringer Vorrath an Luft geboten werden kann und dass die gasförmigen Zersetzungsproducte, die hemmend auf die Weiterentwickelung der Cultur wirken, sich in dem engen Raume anhäufen. Deswegen ist diese Methode auch nur in vereinzelten Fällen anwendbar.

Im Ganzen genommen sieht es also mit den Reinculturen recht traurig aus und Niemand, der in der bisher üblichen Weise Züchtungen von Mikroorganismen unternommen

und nicht alle die von mir angedeuteten Fehlerquellen ganz sicher vermieden hat (was nach meiner Ueberzeugung überhaupt unmöglich ist), darf sich beklagen, wenn die Resultate seiner experimentellen Forschung unter den derzeitigen Verhältnissen nicht als auf exactem Wege gewonnen und daher nicht als beweiskräftige von der Wissenschaft anerkannt werden. Am meisten dürfte das Gesagte wohl auf die allerdings mit einem anerkennenswerthen aber zugleich blinden Eifer ausgeführten Arbeiten Anwendung finden, die jetzt in Masse aus der Pasteur'schen Schule hervorgehen und in Reinculturen von Organismen der Hundswuth, Schafpocken, Lungenseuche u. s. w. Unglaubliches leisten.

Die Reincultur ist, wie schon mehrfach betont wurde, für die weitere Ausbildung der Lehre von den pathogenen Organismen und Allem, was damit zusammenhängt, ganz unentbehrlich, und in irgend einer Weise muss Rath geschafft werden, um eine leicht zu handhabende und exacte Methode derselben zu erlangen. Auf dem jetzt eingeschlagenen Wege scheint mir keine Aussicht für eine ausreichende Verbesserung vorhanden zu sein. Man hat versucht, die Impfungen und Weiterimpfungen unter dem Schutze eines antiseptischen Spray zu machen. Es ist nicht unmöglich, dass dadurch einzelne in der Luft befindliche noch entwickelungsfähige Bacterien vernichtet werden; wie wenig aber die üblichen antiseptischen Mittel gegen Sporen ausrichten, ist aus meinen später zu erwähnenden Desinfections-Versuchen mit den Sporen von Milzbrandbacillen und anderen Bacterien zu ersehen. Soviel steht nach diesen Versuchen fest, dass ein Spray mit einer Lösung von Carbolsäure, Salicylsäure, übermangansaurem Kali u. s. w. bei der kurz dauernden Berührung absolut keine Wirkung auf Bacteriensporen hat und dass also trotz des Spray eine ganze Kategorie von in der Luft suspendirten Keimen jederzeit die Culturflüssigkeiten verunreinigen können. Von Klebs*) ist eine Verbesserung angegeben, die darin besteht, dass der das Culturgefäss verschliessende pilzdichte Pfropf im oberen Theile durch geglühten Asbest gebildet wird. Vor der Entnahme von Proben zur Untersuchung oder Weiterzüchtung wird die Asbestschicht von Neuem erhitzt und alle etwa inzwischen darauf abgelegten Keime zerstört, dann der Pfropf mit einer geglühten Nadel durchbohrt und vermittelst ebenfalls geglühten Glasröhrchen die Probe aus dem Culturgefässe genommen. Ich kann hierin nur eine weitere Complication des schon an und für sich sehr umständlichen Verfahrens der Reincultur erblicken, ohne dass es einen entsprechenden Schutz gegen Verunreinigungen beim Weiterimpfen verschafft, denn wenn auch nur eine sehr kleine Oeffnung in den Pfropf gemacht wird, so wird die Gefahr des Eindringens von Keimen doch nur dadurch verringert, aber niemals ganz aufgehoben, und beim Uebertragen der Probe von einem Gefässe zum anderen muss diese immer entweder unmittelbar oder das Glasröhrchen, welches sie einschliesst, die Luft passiren und kann unterwegs Verunreinigungen aufnehmen.

Es leuchtet wohl ein, dass alle Bestrebungen nach dieser Richtung hin vergeblich sind. Ich bin deswegen von dem bisher befolgten Principe der Reincultur vollständig abgewichen und habe einen neuen Weg eingeschlagen. Eine einfache Beobachtung, die Jeder leicht wiederholen kann, brachte mich auf denselben.

Wenn man eine gekochte Kartoffel halbirt und mit der Schnittfläche nach oben einige Stunden an der Luft liegen lässt und sie darauf in einen feuchten Raum bringt, z. B. unter eine feucht gehaltene Glasglocke, um sie vor dem Eintrocknen zu bewahren, dann wird man je nach der Temperatur des Raumes, in dem sich die Kartoffel befindet, am folgenden, zweiten oder dritten Tage bemerken, dass mancherlei verschiedene, sehr kleine Tröpfchen auf der Kartoffel entstehen, die fast alle unter einander verschieden zu sein scheinen. Einige dieser Tröpfchen sind von weisslicher Farbe, porcellanartig, andere sind gelblich, braun, hellgrau, röthlich, einige sehen aus, wie ein flach ausgebreitetes Wassertröpfchen, wieder andere sind halbkuglig, noch andere warzenartig. Aber alle vergrössern sich mehr oder weniger, dazwischen zeigen sich Mycelien von Schimmelpilzen, zuletzt fliessen die einzelnen

*) Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie, Bd. XIII S. 432.

Tröpfchen zusammen und bald tritt ausgesprochene Fäulniss der Kartoffel ein. Werden nun diese Tröpfchen, so lange sie noch isolirt bestehen, mikroskopisch untersucht, am besten nachdem sie auf dem Deckglas ausgestrichen, erhitzt und gefärbt sind, dann stellt sich heraus, dass jedes einzelne derselben aus einer bestimmten Art von Mikroorganismen besteht. In dem einen zeigen sich beispielsweise grosse Mikrokokken, in einem anderen sehr kleine, in einem dritten kettenförmig angeordnete Mikrokokken, andere Colonien, besonders die flach ausgebreiteten, membranartig gestalteten werden von Bacillen der verschiedensten Grösse und Anordnung gebildet. Manche bestehen aus Hefezellen und zwischendurch findet sich hin und wieder das aus einer Spore hervorsprossende Mycel eines Schimmelpilzes. Woher alle diese verschiedenen Organismen stammen, darüber wird man nicht lange in Zweifel sein, wenn eine andere Kartoffel, welche mit einem geglühten Messer geschält wurde, um die stets der Schale mit der Erde anhaftenden, durch das kurze Kochen noch nicht getödteten Bacillen-Sporen zu beseitigen, der Luft nicht ausgesetzt und in einem desinficirten Becherglas unter Watteverschluss aufbewahrt und beobachtet wird. Auf der so behandelten Kartoffel bilden sich keine Tröpfchen, keine Organismen siedeln sich auf ihr an und sie bleibt unverändert, bis sie nach Wochen allmälig vertrocknet. Es können sich also auf die erste Kartoffel die Keime, welche sich zu den kleinen tropfenartigen Colonien entwickelten, nur aus der Luft niedergelassen haben, und man findet in der That oft in der Mitte der kleinen Colonie noch ein deutlich erkennbares Staubpartikelchen oder Fäserchen, welches den Keimen, seien es nun angetrocknete, noch lebensfähige Bacterien, Hefezellen, oder seien es Sporen, zum Träger diente. Um indessen keinen Irrthum aufkommen zu lassen, muss ich noch hinzufügen, dass auf der ungeschälten Kartoffel einzelne vom Rande her sich entwickelnde Colonien aus Keimen entstehen, die an der Schale und zwar in der derselben anhaftenden Erde sich befinden.

Was lässt sich denn nun dieser Beobachtung der auf der Kartoffel heranwachsenden Colonien entnehmen? Am auffallendsten ist die Thatsache, dass mit wenigen Ausnahmen, in denen vermuthlich zwei verschiedene Keime so dicht neben einander zu liegen kamen, dass die entstehenden Colonien bald zusammenfliessen mussten, oder wenn dasselbe Stäubchen mit verschiedenen Keimen beladen war und diese zugleich zur Entwickelung kamen, dass also mit diesen wenigen Ausnahmen jedes Tröpfchen oder Colonie eine Reincultur ist und so lange bleibt, bis sie bei weiterem Wachsthume mit dem Nachbar zusammenstösst und die Individuen der einen Colonie sich mit denen der anderen vermengen. Wenn an Stelle der Kartoffel die gleich grosse Fläche einer Nährflüssigkeit dem Einflusse der Luft ausgesetzt worden wäre, dann hätten sich unzweifelhaft auch Keime aus der Luft auf die Oberfläche derselben gesenkt und zwar annähernd dieselbe Zahl und dieselben Arten, wie es bei der Kartoffel der Fall war, aber die Entwickelung dieser Keime würde in einer von der vorher beschriebenen ganz verschiedenen Weise vor sich gegangen sein. Die beweglichen Bacterien hätten sich schleunigst in der Flüssigkeit vertheilt, würden sich unter die anfangs noch einigermaassen in kleinen schwimmenden Colonien zusammengehaltenen unbeweglichen gemischt und diese ebenfalls durch ihre lebhaften Bewegungen durcheinander gewirbelt und überall hin verschleppt haben; einige Organismen würden sich am Grunde der Flüssigkeit, andere in den oberen Schichten umhertreiben; manche, die auf der Kartoffel ein Plätzchen fanden, auf dem sie sich ungestört vermehren konnten, würden in der Nährflüssigkeit von den anderen üppiger wachsenden Organismen schon beim Auskeimen erstickt werden und gar nicht zur Entwickelung kommen. Kurz, die ganze Flüssigkeit würde von Anfang an bei einer mikroskopischen Untersuchung das Bild eines wirren Gemisches von Formen und Gestalten geboten, aber niemals auch nur im entferntesten an eine Reincultur erinnert haben. Worin liegt denn aber dieser durchgreifende Unterschied zwischen dem Nährboden, den die Kartoffel den Mikroorganismen bietet, und demjenigen, den ihnen die Nährflüssigkeit gewährt? Doch nur darin, dass der eine fest ist und verhindert, dass die verschiedenen Arten, auch wenn sie beweglich sind, durcheinander gemengt werden, während in dem

anderen flüssigen Nährsubstrat von einem Getrenntbleiben der Arten überhaupt nicht die Rede sein kann.

Es lag nun nahe, die Vortheile, welche ein fester Nährboden für Reinculturen bietet, weiter auszunutzen. Es wurden also einzelne der früher beschriebenen spontan auf gekochten Kartoffeln entstandenen Colonien auf anderen eben durchschnittenen Kartoffeln möglichst ausgebreitet und in den feuchten Raum gelegt. Es entstand dann bald, schon am folgenden oder nächstfolgenden Tage eine reichliche Entwickelung der ausgesäten Mikroorganismen und zwar behielten sie genau dieselben charakteristischen Eigenschaften wie das ursprüngliche Tröpfchen. War dieses gelb und bestand aus kleinen Mikrokokken, dann erschien jetzt auf der damit inficirten Kartoffel eine ausgedehnte gelbe Schicht, die genau aus denselben kleinen Mikrokokken bestand. Ganz ebenso verhielten sich auch andere Mikrokokken, die verschiedenen Bacillenarten, Hefe, Pilze u. s. w. Alle liessen sich ziemlich schnell aus anfänglich sehr kleinen Colonien durch wenige Fortzüchtungen auf weitere Kartoffeln in reichlicher Menge und in vollkommen reinen Culturen erhalten. Ein sehr ängstliches Abschliessen der Luft von diesen Culturen war gar nicht erforderlich, denn wenn auch hier und da Keime von anderen Organismen auf die Kartoffeln geriethen, so konnten sie sich doch nur örtlich entwickeln und langsam ausbreiten, vermochten aber niemals die gesammte Cultur zu gefährden; ausserdem machten sie sich durch das charakteristische Aussehen, das ihre in geschlossener Masse befindlichen Colonien hatten, unter den gezüchteten Organismen sofort als Fremdlinge kenntlich, so dass alle diese zufälligen Verunreinigungen der Cultur beim Weiterimpfen leicht vermieden werden konnten. Nur bei zu langem Abwarten trat wohl eine derartige Vermehrung der fremden Organismen ein, dass die Cultur in Gefahr gerieth. Aber die Erfahrung lehrte bald, den richtigen Zeitpunkt zur Weiterzüchtung einzuhalten, um stets ganz sichere Reinculturen zu behalten. Hiermit war also die Möglichkeit, in einer höchst einfachen Weise ganz tadellose Reinculturen auszuführen, gegeben. Wenigstens mit allen den Organismen, für welche gekochte Kartoffeln ein geeigneter Nährboden sind, und die Zahl derselben ist nicht gering. Wie schon erwähnt, wachsen zahlreiche verschiedene Mikrokokken und Bacillen auf Kartoffeln in üppiger Weise und es lag nahe, auch andere bekannte und praktisches Interesse bietende Bacterien auf diesen Nährboden zu verpflanzen. Es wurden also Heubacillen auf gekochte Kartoffeln gebracht und sehr kräftige Culturen erhalten, die einen weisslichen, rahmartigen Ueberzug der Kartoffel-Schnittfläche bildeten und auf den ersten Blick von anderen spontan auf der Kartoffel entstehenden Bacillencolonien zu unterscheiden waren, namentlich von den am häufigsten in Form eines kleinen nassen Fleckes am Rande der Kartoffel entstehenden und bald in eine schleierartig gefaltete Membran übergehenden, einen zähen fadenziehenden Schleim producirenden Bacillen. Nachdem dieser Versuch geglückt war, wurde ein anderer mit Milzbrandbacillen angestellt und auch dieser gelang in der ausgezeichnetsten Weise, wie ich an einer anderen Stelle ausführlicher zu besprechen haben werde. Aber mit anderen Bacterien, die sich bei Thierversuchen als pathogen erwiesen hatten, fielen alle Culturversuche auf Kartoffeln negativ aus.

Doch das Princip war gefunden und es kam nur darauf an, der Sache eine für alle Fälle passende Gestalt zu geben. Es würde keinen Zweck haben, alle die Versuche zu schildern, welche gemacht wurden, um einen der gekochten Kartoffel ähnlichen festen aber womöglich allen, auch den pathogenen Mikroorganismen passenden Nährboden zu finden, und ich will gleich das End-Resultat dieser Versuche angeben, welches in seiner jetzigen Gestalt schon in der grossen Mehrzahl der Fälle ein vollkommen ausreichendes Verfahren für Reinculturen gewährt und mit der Zeit, noch weiter vervollkommnet, unzweifelhaft allen Ansprüchen genügen wird.

Nachdem ich eingesehen hatte, dass es wohl kaum möglich ist, eine für alle Mikroorganismen gleich gut geeignete, also eine Art Universal-Nährflüssigkeit zu construiren, beschränkte ich mich darauf, die schon bekannten und andere neue bewährte Nährlösungen aus der flüssigen in eine feste, starre Form überzuführen. Das geeignetste Mittel, um dies

zu erreichen, ist ein Zusatz von Gelatine zur Nährflüssigkeit. Hausenblase und andere gelatinirende Substanzen sind bei Weitem nicht so gut zu gebrauchen. Die Mischung von Nährflüssigkeit und Gelatine, die ich der Kürze halber Nährgelatine nennen will, wird in folgender Weise bereitet: Die Gelatine lässt man in destillirtem Wasser quellen und löst sie dann in der Wärme auf. Auch die Nährlösung wird für sich zubereitet und beiden Flüssigkeiten eine solche Concentration gegeben, dass nach dem in einem bestimmten Verhältnisse stattgefundenen Vermischen derselben der beabsichtigte definitive Gehalt an Gelatine und Nährstoffen erreicht wird. Als den passendsten Gehalt der Nährgelatine an Gelatine habe ich in meinen Versuchen einen 2½- bis 3procentigen gefunden. Soll also die Gelatinelösung mit der Nährflüssigkeit zu gleichen Theilen vermischt werden, dann muss, um die Nährgelatine auf 2½ pCt. Gelatinegehalt zu bringen, die Gelatinelösung mit 5 pCt. Gelatine bereitet werden, und ebenso müsste der Nährlösung der doppelte Gehalt an Nährstoffen gegeben werden, beispielsweise für eine Nährgelatine mit 1 pCt. Fleischextract eine 2 pCt. wässrige Fleischextractlösung. Uebrigens kann man auch die Gelatine sofort in der Nährflüssigkeit quellen lassen und auflösen. Die Gelatine ist meistens von schwach saurer Reaction, und es ist deswegen nothwendig, wenigstens wenn die Nährgelatine zur Züchtung von Bacterien benutzt werden soll, sie entweder mit kohlensaurem Kali, kohlensaurem Natron oder basisch phosphorsaurem Natron zu neutralisiren. Die neutralisirte Nährgelatine wird dann noch einmal aufgekocht und, weil sich entweder hierbei oder schon vorher beim Mischen und Neutralisiren Niederschläge bilden und auch öfters die Gelatine verunreinigt ist, filtrirt. Inzwischen ist ein mit Watte verschlossenes Gefäss längere Zeit durch Erhitzen auf 150° C. desinficirt, und in dieses wird die Nährgelatine gefüllt, durch den Wattepfropf abgeschlossen und wiederum aufgekocht. Das Kochen braucht nur ganz kurze Zeit stattzufinden, denn es sollen dadurch nur die in der Nährgelatine vorhandenen, leicht zu tödtenden Mikroorganismen unschädlich gemacht werden. Die darin befindlichen Sporen würden erst durch längeres Kochen vernichtet werden, das sich aber aus dem Grunde hier nicht anwenden lässt, weil dadurch die Gelatine in ihrer Fähigkeit, zu gelatiniren, herabgesetzt wird. Eben deswegen kann auch das Sterilisiren der Nährgelatine im Dampfkochtopfe bei höheren Hitzegraden nicht bewirkt werden. Durch die bisherigen Manipulationen ist die Nährgelatine also noch nicht mit Gewissheit sterilisirt; das stört aber nicht. Wenn die Nährlösung flüssig wäre, würden die noch darin vorhandenen keimfähigen Sporen zu Bacterien auswachsen, sich schnell vermehren, durch die ganze Flüssigkeit verbreiten, aber erst am zweiten oder dritten Tage durch Trübung derselben ihre Anwesenheit verrathen. Dann wäre allerdings die Flüssigkeit auch nicht mehr zu retten, da sie in ihrer ursprünglichen Zusammensetzung schon verändert, möglicherweise schon wieder mit zahllosen neugebildeten Sporen beladen sein würde. In der Nährgelatine aber verhält sich die Sache ganz anders, hier zeigt sich schon der gewaltige Vortheil, den die feste Beschaffenheit des Nährsubstrates für die Beurtheilung seines Gehaltes an Bacterien bietet. Am nächsten Tage oder etwas später wird man in der bis dahin ganz klaren erstarrten Gelatine ziemlich gleichmässig verstreut einige wenige oder auch zahlreiche sehr kleine, undurchsichtige, bei auffallendem Lichte weissliche Pünktchen bemerken. Wollte man die Gelatine ihrem Schicksal überlassen, dann würden sich diese Pünktchen bald zu kleinen Kugeln vergrössern, die immer mehr an Umfang zunehmen, allmälig einen Raum umschliessen, der, wie beim Bewegen des Gefässes sich ergiebt, mit verflüssigter Gelatine gefüllt ist, und zuletzt zusammenfliessend die gesammte Nährgelatine in eine trübe Flüssigkeit verwandeln. Die kleinen, aus den weisslichen Pünktchen heranwachsenden Colonien bestehen aus Bacillen, wovon man sich leicht durch die mikroskopische Untersuchung derselben überzeugen kann. Wenn man das aber weiss und die Gelatine für Culturzwecke sterilisiren will, dann wartet man natürlich nicht so lange, bis dieselben eine ansehnliche Grösse erlangt haben, sondern tödtet sie durch Aufkochen der Gelatine, wenn sie eben schon mit blossem Auge zu erkennen sind. Darin liegt gerade, wie schon gesagt, ein wesentlicher Vortheil der Nährgelatine, dass in ihr die allerersten Anfänge der Bacterienentwickelung nicht über-

sehen werden können. Denn die aus einem Keime hervorgehenden Bacterien müssen lange Zeit auf einen Punkt zusammengedrängt liegen bleiben und sich dadurch schon dann dem Auge bemerklich machen, wenn sie an Zahl noch verhältnissmässig gering sind, und so frühzeitig, dass sie noch nicht zur Sporenbildung gekommen sein und die Nährlösung als solche noch nicht wesentlich verändert haben können. Einen weiteren Vorzug der Nährgelatine vor Nährflüssigkeiten wird man darin erkennen, dass man an derselben die Menge der noch vorhanden gewesenen, als Verunreinigung anzusehenden Keime aus der Zahl der entstandenen Colonien gewissermaassen ablesen kann, und nicht allein dies, sondern auch die Art und Weise, wie die Keime in das die Nährgelatine enthaltende Gefäss gelangten, ist mit dem ersten Blick zu erkennen; denn alle Keime, die nach dem Aufkochen der Gelatine noch entwickelungsfähig blieben, vertheilen sich in der flüssigen Masse ziemlich gleichmässig und erscheinen später als in das Innere der erstarrten Gelatinmasse eingesprengte Colonien; dagegen muss sich Alles, was nach dem Erstarren der Gelatine an entwickelungsfähigen Organismen mit der Nährgelatine in Berührung kommt, z. B. aus der etwa nicht vollständig desinficirten Watte herabfallende mit Keimen beladene Fasern oder aus der Luft den mangelhaft schliessenden Wattepfropf passirende Stäubchen oder im oberen Theile des Gefässes, namentlich im Halse desselben haftende Keime, alle diese nachträglichen Verunreinigungen müssen sich auf der Oberfläche der Gelatine ablagern und können nur hier zu Colonien heranwachsen. Man ist also stets in der Lage, den Zustand des Nährmaterials für die Reinculturen zu controliren und alle Fehler, die etwa bei der Zubereitung sich einschlichen, sofort zu erkennen und auch bald zu beseitigen. Von welchem Werthe gerade dieser beständige Ueberblick über die etwa gemachten Fehler ist, wie dadurch in kurzer Zeit Uebung und grosse Sicherheit in der Handhabung des Verfahrens herbeigeführt wird, das bedarf wohl keines weiteren Hinweises. Man erfährt sehr bald, ob die mit dieser oder jener Nährlösung bereitete Nährgelatine leicht oder schwer zu sterilisiren ist. Bei manchen, z. B. alkalischem Urin oder Pasteur'scher Nährlösung in Form von Nährgelatine gelingt das Sterilisiren leicht, meist schon durch ein einmaliges Aufkochen, bei anderen, wie Fleischextract- oder Heuinfusgelatine ist es langwieriger; man kocht sie deswegen mehrere Tage hindurch täglich einmal auf. Denn man darf sich nicht vorstellen, dass alle Sporen zu gleicher Zeit auskeimen. Bisweilen können Tage lang nach dem letzten Kochen noch vereinzelte Colonien entstehen, die, wie ihre Lage im Innern der Gelatine beweist, von Anfang an in derselben waren und nicht etwa nachträglich hineingekommen sind. Aber, wie gesagt, wenn dies auch der Fall sein sollte, so würden sie bei der häufigen Musterung der Nährgelatine, die in der ersten Woche nicht zu versäumen ist, frühzeitig genug bemerkt und durch nochmaliges Kochen unschädlich gemacht werden.

Was nun die weitere Behandlung und die Anwendung der Nährgelatine zu Reinculturen betrifft, so ist es vor Allem zweckmässig, die Nährgelatine in eine Anzahl von mit Watte verschlossenen und sammt der Watte durch Hitze gut desinficirten Reagensgläschen zu füllen, um jederzeit, ohne jedesmal die Gesammtmenge flüssig machen zu müssen und durch das Oeffnen einer Verunreinigung auszusetzen, ein entsprechendes Quantum der Nährgelatine zur Hand zu haben. Da dieses Quantum, wie man gleich erfahren wird, nur ein geringes ist, ungefähr 10 bis 15 ccm, so wird auch in jedes einzelne Gläschen nicht mehr hineingefüllt.

Weil die Reinculturen mit den Kartoffeln so bequem und sicher auszuführen waren, so habe ich es vorgezogen, der Nährgelatine eine annähernd ähnliche Form zu geben. Man kann sie in flache Uhrgläser, kleine Glasschalen oder dergleichen ausgiessen, aber am zweckmässigsten für die Handhabung der Culturen, besonders bei der mikroskopischen Untersuchung derselben, war es nach meiner Erfahrung, die Nährgelatine in Gestalt eines langen und breiten Tropfens auf Objectträgern, wie sie zum Mikroskopiren gebraucht werden, auszubreiten. Dies geschieht mit einer vorher desinficirten Pipette, und ebenso werden auch die Objectträger selbst vor dem Gebrauche gut gereinigt und längere Zeit einer Temperatur von 150° C. ausgesetzt. Dem Tropfen giebt man eine Dicke von etwa zwei Millimetern, die

Gelatine erstarrt nach wenigen Minuten und es werden dann die Objectträger auf kleine Glasbänke gelegt, die so breit sind, dass sie zwei bis drei Objectträger nebeneinander tragen können, und schliesslich mehrere solcher Glasbänke, etwa vier bis sechs, übereinander geschichtet und in einen beständig feucht gehaltenen Raum gestellt. Für letzteren Zweck verwende ich Glasschalen, die von flachen Glocken bedeckt und im Innern mit angefeuchtetem Fliesspapier austapeziert sind. In solchem Raume sind die Gelatintropfen 2 bis 3 Wochen hindurch vor dem Austrocknen bewahrt. Die Aussaat der zu züchtenden Organismen geschieht nun in der Weise, dass mit einer geglühten Nadel oder einem geglühten Platindraht eine möglichst geringe Menge der dieselben enthaltenden Flüssigkeit oder Substanz aufgenommen und dann in mehreren, etwa drei bis sechs, Querlinien auf die Gelatine gebracht wird. Die Nadel wird ungefähr in derselben Weise gehandhabt, wie die Impflanzette beim Impfen mit Schnitten; auch ist es gut, die Schnitte ebenso flach zu halten wie beim Impfen. Der Ausdruck Impfen würde also für diese Manipulation recht wohl passen. In gleicher Weise wird die Impfung bei mehreren Objectträgern ausgeführt, so dass also ohne irgend welche Mühe oder erheblichen Zeitverlust zwölf bis fünfzehn Einzelculturen in Gang gebracht sind; denn ein jeder Impfstich repräsentirt eine für sich bestehende und von den übrigen in ihrer Entwickelung ganz unabhängige Cultur. Eigentlich ist die Zahl noch grösser, weil man die einzelnen Abschnitte eines Striches noch wieder für sich betrachten und für die Weiterzüchtung verwerthen kann.

Einen weiteren Schutz als die nicht einmal vollständig abschliessende Glasglocke braucht man den Culturen gegen die überall drohenden Gefahren der Verunreinigung nicht zu geben. Es bleibt auch nicht aus, dass schon beim Impfen der Nährgelatine, beim Lüften der Glocke und während der mikroskopischen Untersuchung der Culturen fremde Organismen in die Culturen gerathen; aber dieselben können nur immer an der Stelle der Gelatine, auf welche sie gefallen sind, zur Entwickelung kommen; nur hin und wieder wird einmal einer der Impfstriche selbst oder seine unmittelbare Nachbarschaft der Sitz von fremden Colonien. Aber es ist kaum denkbar, dass sämmtliche Culturen binnen kurzer Zeit so von Keimen befallen würden, dass sie zur Weiterzüchtung unbrauchbar wären, und dies kommt auch in der That nicht vor, namentlich, wenn die Glocken nicht zu oft gelüftet werden. Binnen wenigen Tagen sind die Reinculturen so weit herangewachsen, dass sie das Maximum ihrer Entwickelung erreicht haben und weiter verimpft werden können. Besonders wenn, wie es bei manchen Bacterien der Fall ist, bei schnellem Wachsthum die Gelatine verflüssigt wird, ferner wenn schon Sporenbildung eingetreten ist, dann hat ein längeres Liegenlassen der Cultur keinen Zweck und dieselbe muss baldigst weiter übertragen werden. Sollen einzelne Culturen durch längere Zeiträume vor Verunreinigungen geschützt werden, dann müssen sie selbstverständlich unter Watteverschluss gehalten werden, aber auch hierbei bewährt sich die Nährgelatine als ein zuverlässiges Substrat, weil an der Gestalt und anderen charakteristischen Merkmalen bei nur einiger Uebung auch ohne die sonst unerlässliche mikroskopische Prüfung die Reinheit der aus der Aussaat hervorgegangenen Colonien mit ziemlicher Sicherheit und etwa ausserhalb der Impfstelle liegende Verunreinigungen sofort als solche erkannt werden können.

Bei niedrigen Temperaturen geht die Entwickelung der Culturen sehr langsam vor sich, manche Organismen bedürfen überhaupt eines bestimmten Wärmegrades, um gedeihen zu können. Am üppigsten wachsen die Gelatineculturen bei 20 bis 25° C. und bis jetzt ist mir noch kein Organismus begegnet, der bei dieser Temperatur, wenn er überhaupt für künstliche Züchtung zugänglich ist, nicht gewachsen wäre. Sollte es aber nöthig sein, Temperaturen über 30° C., bei denen die Gelatine flüssig wird, zu gebrauchen, dann müsste man auf die Gelatine überhaupt verzichten oder ihre Eigenschaften insofern noch ausnützen, dass in die starre durch Watteverschluss geschützte Gelatine geimpft wird, und erst wenn sich nach ungefähr 24 Stunden bei 25° C. in ihr keine fremden Colonien gezeigt haben und damit die grösste Wahrscheinlichkeit für das Gelingen einer von Verunreinigungen freien Impfung gegeben ist, dass also dann erst die Culturen auf Brüttemperatur gebracht werden.

Eine sehr wichtige Aufgabe bei der Ausführung der Reinculturen, an deren Nichtlösbarkeit, wie ich früher auseinandergesetzt habe, die meisten bisherigen Reinculturversuche scheitern mussten, nämlich die Beschaffung eines ganz sicher reinen Materials zur ersten Aussaat, kann mit Hülfe der Nährgelatine sehr leicht erfüllt werden. Wenn beispielsweise Blut von einem septicämischen Thiere zu Culturen verwendet und die darin befindlichen Septicämie-Bacterien rein gezüchtet werden sollen, dann bedarf es gar keiner ausserordentlichen Vorbereitungen mit Spray, geglühten Capillarröhrchen u. s. w., die schliesslich doch alle in Stich lassen, sondern es ist vollständig ausreichend, unter Vermeidung gröberer Verunreinigungen, was gewiss keine Schwierigkeiten bereitet, also beispielsweise mit einer geglühten Nadel etwas Blut aus dem eben geöffneten Herzen oder aus einem beliebigen Blutgefässe zu nehmen und auf die Nährgelatine in einer nicht zu geringen Zahl von Strichen zu impfen. Es wachsen dann in einigen Strichen vereinzelte Pilzmycelien, auch einige Mikrokokkenhaufen, deren Keime kaum vollständig bei einer Thiersection auszuschliessen sind, ausserdem aber auch noch eine je nach dem Gehalte an Septicämie-Bacterien geringere oder grössere Anzahl von ganz reinen, durch ihren eigenthümlichen matten Glanz und äusserst feinkörnige Granulirung bei schwacher Vergrösserung sofort erkennbare Colonien der Septicämie-Bacterien und darunter genug solche, von denen man bequem oder im Nothfalle mit Hülfe des Präparirmikroskops die Weiterzüchtungen in Gang setzen kann. (Vergl. Tab. XII Phot. 70.) In diesem Falle waren die fremden Beimischungen in der Minderzahl und deswegen von vornherein auf eine grössere Menge von reinen Colonien der für die Weiterzüchtung bestimmten Bacterien zu rechnen; aber wenn sich dieses Verhältniss auch umkehren sollte oder wenn überhaupt nur ganz vereinzelte der aufzusuchenden Bacterien sich in dem Gemisch befinden, dann gelingt das Experiment, wenn auch nicht ebenso leicht, aber ebenso sicher. Es wird dann nur erforderlich sein, das Bacteriengemisch recht verdünnt und in recht zahlreichen Impfstrichen zu impfen. Sehr vortheilhaft ist unter solchen Umständen auch das Impfen in die noch flüssige Gelatine, um die verschiedenen Keime auf eine grössere Fläche zu vertheilen, oder man kann auch die flüssig gemachte Nährgelatine mit einer möglichst geringen Menge der Substanz gut vermischen, dann erst auf Objectträgern ausgiessen und unter den entstandenen Colonien mit dem Mikroskop die betreffenden heraussuchen.

Es wurde schon früher von mir hervorgehoben, dass für die verschiedenen Mikroorganismen auch verschiedene Nährsubstrate zu beschaffen sind. Um nur an eins der gröbsten Beispiele zu erinnern, so wird man Bacterien und Pilze nicht auf demselben Nährboden mit Vortheil cultiviren, denn im Grossen und Ganzen gedeihen diese besser auf saurem, jene besser auf neutralem oder schwach alkalischem Substrat. Es ist deswegen auch nothwendig, mit möglichst verschiedenen, den Anforderungen der verschiedenen Gruppen der Mikroorganismen und selbst der einzelnen Arten derselben entsprechenden Nährgelatinen zu arbeiten.

Bei unseren Untersuchungen kamen mancherlei Nährgelatinen zur Verwendung, von denen in dem einen Falle diese, in einem anderen jene grössere Vortheile bot. Besondere Erwähnung verdienen: Heuinfus-Gelatine, die für manche Bacillenarten ein vorzügliches Nährmaterial abgiebt; Weizeninfus-Gelatine, mit *Humor aqueus* bereitete Gelatine, Gelatine mit Fleischextract und Pepton; eine andere mit Fleischinfus und Pepton eignet sich besonders gut für manche pathogene Bacterien, unstreitig das beste Nährmaterial für pathogene Bacterien ist indessen eine aus Blutserum und Gelatine hergestellte Nährgelatine, über die ich wegen ihrer Unentbehrlichkeit noch einige Bemerkungen machen will. Bei dieser Nährgelatine kann das Sterilisiren nicht durch Kochen bewirkt werden, weil sonst die Eiweisskörper des Serum gerinnen würden; es muss deswegen schon von vornherein darauf Bedacht genommen werden, das Blutserum möglichst von Verunreinigungen frei zu halten. Es wird also das frische Blut unmittelbar in einem reinen Gefässe aufgefangen und ruhig stehen gelassen, bis feste Gerinnung eingetreten ist, dann der Blutkuchen am oberen Rande vorsichtig abgelöst und verdeckt ein bis zwei Tage an einen kalten Ort gestellt, bis sich eine genügende Menge klaren und wenig gefärbten Serums abgeschieden hat. Dasselbe wird mit einer geglühten Pipette aufgenommen und mit

flüssig gemachter vorher gut sterilisirter Gelatine von 5 pCt. zu gleichen Theilen in desinficirte Probirröhrchen gefüllt und sofort mit desinficirter Watte verschlossen. Um nun noch die Serumgelatine zu sterilisiren, werden die Probirröhrchen einige Male und zwar anfangs täglich einmal, später nach grösseren Zwischenräumen eine halbe bis eine Stunde lang in ein Wasserbad, das eine Wärme von 52° C. hat, gebracht. In dieser Weise ist es mir noch jedesmal gelungen, eine vollständig sicher sterilisirte Blutserum-Gelatine zu erhalten.

Zu Pilzculturen wurden Nährgelatinen mit Pflaumen- oder Pferdemist-Decoct gebraucht, die ebenfalls einen äusserst günstigen Nährboden für dieselben abgeben.

Ausser den bis jetzt erörterten Vorzügen bieten die mit Nährgelatine angestellten Reinculturen noch den ganz erheblichen Vortheil, dass sie jederzeit, ohne beschädigt oder in ihrer Weiterentwickelung irgendwie gestört zu werden, der Controle durch das Mikroskop unterzogen werden können. Allerdings lassen sich nur schwache Vergrösserungen anwenden, aber diese genügen auch vollkommen, um die Culturen zu überwachen und die zur Weiterzüchtung geeigneten Stellen auszusuchen. Man kann die mit der Nährgelatine versehenen Objectträger ohne Weiteres unter das Mikroskop legen und beispielsweise mit Hartnack System 4 und Ocular 3 oder Zeis System A. A. nebst starkem Ocular und enger Blende des Beleuchtungsapparates untersuchen. Sehr oft sind mit diesen Vergrösserungen schon die einzelnen Bacterien in den Colonien, wenigstens am Rande, zu erkennen; grössere Bacillen, Sarcine, Hefe sind sofort in den einzelnen Individuen deutlich als solche erkennbar. Sollen in zweifelhaften Fällen stärkere Vergrösserungen zur Verwendung kommen, dann muss der eine oder andere Impfstrich geopfert und mit einem Deckglas belegt werden; in dieser Weise lassen sich auch selbst Immersionssysteme noch zur unmittelbaren Untersuchung der Colonien benutzen. Gewöhnlich ist das aber nicht erforderlich. Wenn man eine grössere Zahl von spontan angesiedelten und von durch Impfung übertragenen Bacterien-, Pilz- u. s. w.-Colonien auf Nährgelatine mit dem Mikroskop bei schwacher Vergrösserung beobachtet, dann gewinnt man sehr bald die Ueberzeugung, dass jede einzelne Art in der Form, Gestalt, Farbe und im Wachsthum ihrer Colonien, die sie auf Nährgelatine bilden, ganz charakteristische und leicht wieder zu erkennende Eigenschaften besitzt. Diese Erscheinung hat nichts Auffälliges, wenn man sich erinnert, dass ähnliche Verhältnisse sich überall im weiten Gebiete der Naturbeobachtung wiederholen, nämlich überall da, wo eine Anhäufung von Individuen derselben Art stattfindet. Mag nun die Entfernung eine so grosse sein, dass das einzelne Individuum nicht mehr deutlich als solches zu erkennen ist, oder mag die Grösse der Einzelindividuen überhaupt so gering sein, dass sie vom unbewaffneten Auge nicht mehr erfasst werden, so wird man doch aus den Eigenschaften der Gesammtmenge, des Haufens, Schwarms, der Colonie immer noch mit mehr oder weniger grosser Sicherheit auf die bestimmte Art, welcher dieselbe angehört, schliessen können; denn die meisten Eigenschaften des Schwarms sind schliesslich doch nichts weiter als die Summe der Eigenschaften der Einzelindividuen. Nehmen wir nur beispielsweise die Farbe. Bei einem einzigen Thier oder einer einzelnen Pflanze kann dieselbe wegen der Entfernung oder der Kleinheit des Objectes möglicherweise nicht mehr sicher erkannt werden, sobald aber eine grössere Anzahl von Individuen derselben Art dicht neben einander sich befinden, dann summirt sich die Farbenwirkung Aller und es entsteht ein Effect, der sich dem beobachtenden Auge deutlich zu erkennen giebt. Ebenso ist es mit der Bewegung. Ein einzelnes vom Auge kaum noch erkanntes oder für dasselbe überhaupt schon unsichtbares kleines Object, z. B. ein in der Ferne fliegender Vogel wird entweder gar nicht mehr oder doch so undeutlich wahrgenommen, dass es unmöglich ist, ein Urtheil über die Beschaffenheit desselben zu gewinnen. Das Verhältniss wird sofort anders, wenn ein Schwarm von Vögeln in derselben Entfernung sich bewegt. Nicht allein fällt die grössere Menge sofort ins Auge, sondern es erkennt auch ein geübter Blick an der Gestalt des Schwarms und an den Gesammtbewegungen desselben die Art, welcher die den Schwarm bildenden Einzelindividuen angehören. In derselben Weise liessen sich noch andere Eigenschaften der Gesammtmenge auf diejenigen der constituirenden

Theile zurückführen. Genau ebenso liegen nun aber auch die Verhältnisse in unserem Falle bei den von Mikroorganismen gebildeten Schwärmen und Colonien, nur dass hier das unbewaffnete Auge in den meisten Fällen auch die Eigenschaften des Schwarms nicht mehr hinreichend zu erkennen vermag und sich dazu einer mässigen Vergrösserung, des Mikroskops, bedienen muss. Mit Hülfe des Mikroskops lassen sich aber auch die in Farbe, Grösse, Gestalt u. s. w. hervortretenden Eigenschaften der einzelnen Colonien so deutlich wahrnehmen, dass es leicht ist, die den verschiedenen Arten angehörigen Colonien zu unterscheiden. So sind beispielsweise Milzbrandbacillen und Heubacillen in Gelatineculturen gar nicht mit einander zu verwechseln. Die Milzbrandbacillen sind niemals beweglich und bilden immer aus langen wellen- und lockenförmigen oft um einander gedrehten Fäden bestehende Flocken. Die Heubacilllen dagegen sind nur in ganz jungen Colonien zu längeren Fäden ausgewachsen, sobald sie sich weiter entwickeln und, was regelmässig der Fall ist, dabei die Gelatine verflüssigen, dann sieht man sie nur in Form von lebhaft beweglichen Stäbchen den Innenraum der Colonie erfüllen und am Rande derselben in ganz regelmässigen senkrecht gegen die Peripherie gerichteten Massen sich in die noch feste Gelatine einbohren, so dass die Colonie so aussieht, als sei sie von einem Strahlenkranze umgeben. Es giebt das ein so charakteristisches und von dem der Milzbrandcolonie so weit verschiedenes Bild, dass man die einen Bacillen sowohl als die anderen sofort an den geschilderten Kennzeichen unter allen anderen Mikroorganismen wieder erkennen kann. Andere Bacillen zeigen noch wieder andere Formen; die beweglichen bilden meistens kranzartige Figuren ähnlich denen des Heubacillus, aber von diesem durch die Gestalt und Breite des Strahlenkranzes verschieden. Noch andere Bacillen bilden Colonien, die wie ein weitausgreifendes, vielfach verschlungenes Wurzelgeflecht aussehen; bei den Desinfectionsversuchen erhielten wir einen der Hitze am längsten Widerstand haltenden Bacillus, der von ziemlich plumper Form ist und auf der Gelatine flach ausgebreitete Colonien bildet, in denen die einzelnen Bacillen mosaikartig dicht neben einander gelagert sind, also keine Scheinfäden bilden und auch keine Bewegung zeigen. Damit ist die Reihe der verschiedenen Bacillenformen aber noch lange nicht erschöpft, es würde nur zu weit führen, wenn ich alle die von mir bis jetzt beobachteten Arten aufzählen wollte, und wie viele mag es noch ausserdem geben. Noch zahlreicher sind die verschiedenen Formen der Mikrokokkencolonien von einfachen farblosen, kugelförmigen Gebilden, fein- bis grobkörnigen, bis zu bräunlich, röthlich, gelb, weiss u. s. w. gefärbten, schraubenförmig gewundenen oder blattähnlich gelappten, ausgebreiteten Massen. Leicht kenntlich sind die Häufchen der Sarcine, die ebenfalls in mehreren, an Grösse verschiedenen Arten auftritt. Ganz ähnlich wie diese verhalten sich auch die Hefearten. Die Pilze lassen sich sehr leicht an den auf der Gelatine in voller Ueppigkeit zur Entwickelung kommenden Fructificationsorganen von einander unterscheiden. (Vergl. Tab. IX Phot. 54.) Wenn Bacteriencolonien im Innern der Gelatine liegen, treten ihre besonderen Eigenschaften nicht so deutlich hervor, als wenn sie sich ganz ungehindert und im Contact mit der Luft an der Oberfläche der Gelatine entwickeln können. Es ist deswegen auch rathsam, nur die an der Oberfläche befindlichen Colonien mit einander zu vergleichen und in der Tiefe liegende, über deren Zugehörigkeit man im Zweifel ist, auf die Oberfläche zu verimpfen und da wieder zur vollen Entwickelung kommen zu lassen.

Einige Beispiele von Gelatineculturen sind unter den Photogrammen zu finden, auf deren Beschreibung am Schlusse dieser Arbeit ich verweise.

Zahlreiche und oft lange Reihen von Reinculturen habe ich mit pathogenen und nicht pathogenen Mikroorganismen auf gekochten Kartoffeln und Nährgelatine ausgeführt, und nicht ein einziges Mal ist es mir begegnet, dass einer dieser Organismen irgendwie erkennbare Veränderungen in seinen Eigenschaften hätte erkennen lassen. Sie behielten sämmtlich, so oft sie auch untersucht und wenn sie Monate lang in Reinculturen erhalten wurden, ihre äusseren Kennzeichen sowohl als ihre physiologischen Eigenschaften, soweit sich dieselben feststellen liessen, von Anfang bis zum Ende der Beobachtung in ganz gleicher Weise. Auch wenn

das Nährsubstrat zeitweilig verändert wurde, oder wenn die Zwischenzeiten der Weiterzüchtung das eine Mal möglichst lang und in einer anderen Reihe möglichst kurz genommen wurde, wenn in einer Reihe immer die Sporenbildung abgewartet, in einer anderen aber schon vor der Sporenbildung weiter geimpft wurde, so hatte das Alles gar keinen Einfluss auf die Eigenschaften der gezüchteten Organismen. Es kamen selbstverständlich Verunreinigungen der verschiedensten Art vor. Aber wenn beispielsweise unter fünfzehn mit Milzbrandbacillen geimpften Impfstrichen einer Nährgelatine zwölf ganz rein zur Entwickelung kommen, in zweien sich neben den Milzbrandbacillen braune Mikrokokkenhaufen und in einem, aber auch nur an einer Stelle des langen Striches Heubacillen angesiedelt haben und wenn ausserdem an einzelnen von den Impfstrichen entfernten Stellen der Nährgelatine einige weitere Mikrokokkenhaufen, mehrere Heubacillencolonien und Pilzmycelien zur Entwickelung gekommen sind, dann wird doch Niemand behaupten wollen, dass in dem einen Impfstrich und auch nur an einer Stelle desselben die Milzbrandbacillen sich ohne weitere Uebergangsformen sofort in ganz veritable Heubacillen verwandelt hätten. Es würde eine solche Behauptung zu der Consequenz führen, dass, weil alle übrigen Impfstriche sich unter den ganz gleichen Bedingungen befinden, man weiter schliessen müsste, dass in den beiden mit Mikrokokken verunreinigten Strichen die Milzbrandbacillen sich unmittelbar in Mikrokokken umgewandelt und dass die frei und von den Impfstrichen entfernt entstandenen Mikrokokken-, Heubacillen- und Pilzcolonien durch *Generatio aequivoca* entstanden sein müssten. Zu dieser letzten Consequenz wird man sich nun wohl am schwersten entschliessen und wird sagen, dass die frei entstandenen Colonien von Luftkeimen herrühren, die auf die Gelatine gefallen sind. Dann steht aber auch nichts der Annahme entgegen, dass sich ganz zufällig Mikrokokkenkeime auf zwei der Impfstriche und eine Heubacillenspore auf die eine Stelle des einen Impfstriches niedergelassen haben. Dies Beispiel ist keineswegs ganz ungewöhnlichen Verhältnissen entnommen, sondern ganz genau in der soeben geschilderten und in ähnlicher Weise kommen die Beimischungen fremder Organismen in den Reinculturen vor. Deswegen ist auch der Einwand, den man gegen die Constanz der Arten bei meinem Reincultur-Verfahren erheben konnte, dass nämlich zur Weiterimpfung nur immer die besten und reinsten Impfstriche ausgesucht werden und dass es deswegen garnicht zu einer Umwandlung der Art in eine andere kommen könne, nicht stichhaltig. Denn bei meinem Verfahren werden ja nur die schon durch ihre gröberen Eigenschaften kenntlichen von den reingezüchteten durch eine weite Kluft getrennten Arten ferngehalten, und wenn ganz allmälige Uebergänge von einer Art zu einer anderen vorkämen, dann würde man dieselben, da sie doch nur minimal sein können, nicht mehr deutlich wahrnehmen und unzweifelhaft auch diese minimal veränderten Organismen weiterimpfen und schliesslich, ohne es abwenden zu können, die morphologisch abgeänderte Art erhalten. Der Umzüchtung in eine physiologisch verschiedene Varietät würde mein Verfahren auch nicht das geringste Hinderniss entgegensetzen, da die Auswahl beim Weiterzüchten nicht nach physiologischen, sondern nach morphologischen Kriterien stattfindet. Aber, ich wiederhole es, es ist mir weder eine morphologische noch physiologische Wandelung der Art bei meinen Versuchen vorgekommen.

In der Botanik und Zoologie ist es ein allgemein befolgter Grundsatz, alle belebten Wesen, die bis dahin unbekannt waren, genau zu beschreiben, zu benennen und vorläufig als selbstständige Arten zu registriren. Es hat sich allerdings bisweilen zugetragen, dass einzelne als selbstständig angesehene Arten sich später als Formen herausgestellt haben, die dem Entwickelungskreise einer schon bekannten Art angehörten. Aber weit häufiger war es nothwendig, bei genauerer Untersuchung und Anwendung feinerer Methoden und besserer Instrumente, dass eine Art, die bis dahin für eine einheitliche gehalten wurde, in mehrere zerlegt werden musste. Von diesem bewährten und allgemein gültigen Grundsatze, alle neuen Formen, die in ihren Eigenschaften wesentlich von einander abweichen, solange ihre Zusammengehörigkeit nicht unumstösslich nachgewiesen ist, auseinander zu halten, ist man merkwürdigerweise auf dem Gebiete der Mikroorganismen, namentlich auf demjenigen der

Bacterien, vielfach abgewichen. Es begegnen uns vom Anfange der Bacterienforschung bis auf die neueste Zeit von Hallier bis Naegeli und Buchner die Bestrebungen, die, wie doch nun einmal nicht abzuleugnen ist, in ihren Eigenschaften sehr verschiedenen Bacterien unbesehen in einen Haufen zusammen zu werfen und eine einzige oder höchstens ein paar Arten daraus zu machen. Wenn es wirklich dermaleinst gelingen sollte, die Bacterienarten durch Ueberführung oder Umzüchtung von einer in die andere bekannte Form zu verwandeln, dann ist es doch gewiss immer noch an der Zeit, diese als zusammenhörig erwiesenen Formen in eine Art zusammen zu fassen. Bis jetzt ist dieser Beweis noch nicht geliefert und es liegt nicht der geringste Grund vor, in der Bacterienlehre von den Maximen der allgemeinen Naturforschung abzuweichen. Wenn auch anfangs einige Arten zu viel angenommen würden, so kann das der Wissenschaft keinen Nachtheil zufügen, aber wenn von vornherein die Nützlichkeit und Nothwendigkeit, die verschiedenen Formen der Bacterien zu erforschen und der Wissenschaft zugänglich zu machen, von der Hand gewiesen wird, so wird damit überhaupt aller weiteren Forschung und allem Fortschritte auf diesem Gebiete ein Riegel vorgeschoben, und das ist gewiss zum grössten Nachtheile für die Entwickelung dieser jungen und vielversprechenden Lehre. Die Wahrheit und Erkenntniss wird sich unzweifelhaft ebenso wie auf anderen Wissensgebieten auch hier zuletzt Bahn brechen und allen unhaltbaren Hypothesenkram über den Haufen werfen. Aber wie so oft, kann auch hier der wahre Fortschritt der nur auf der Bahn mühsamer und langsam fortschreitender Forschung sich bewegt, durch vielversprechende Theorien, die selbst die schwierigsten Probleme spielend zu lösen scheinen, eine Zeitlang in den Hintergrund gedrängt werden, und wenn auch der Wissenschaft daraus kein bleibender Nachtheil erwächst, so kann doch die falsche Richtung dadurch grosses Unheil anrichten, dass sie eine Zeitlang Einfluss auf einige der wichtigsten Gebiete der Gesundheitspflege gewinnt und ihre Lehren in die Praxis übersetzt werden.

Mir scheint es also ganz unverfänglich und nicht allein das, sondern das einzige Richtige zu sein, eine recht sorgfältige Sonderung aller uns bei unseren Untersuchungen begegnenden Mikroorganismen und insbesondere der Bacterien eintreten zu lassen und sich bezüglich der letzteren ganz streng an den Satz zu halten, dass alle diejenigen Bacterien, welche auf demselben Nährboden und unter übrigens gleichen Verhältnissen durch mehrere Umzüchtungen oder sogen. Generationen ihre Eigenschaften, durch welche sie sich von einander unterscheiden, unverändert beibehalten, auch als verschieden anzusehen sind, mag man sie nun als Arten, Varietäten, Formen, oder wie man sonst will, bezeichnen.

Bevor ich das Capitel von der Reincultur beschliesse, will ich mich noch gegen einen Einwurf verwahren, der mir ganz gewiss nicht erspart bleiben wird. Es wird mir entgegengehalten werden, dass mein Reinculturverfahren eigentlich gar nichts Neues und dass es schon eine alte bekannte Sache sei, Bacterien auf Kartoffeln und in Gelatine zu züchten. Das ist schon richtig. Es ist schon lange bekannt gewesen, dass einige Bacterien recht gut auf gekochten Kartoffeln wachsen, und man hat auch schon in Gelatine und in Hausenblasengallerte Bacterien gezüchtet, aber man ist sich der Vortheile, welche der feste Nährboden gewährt, nicht bewusst gewesen, denn die Hausenblase und Gelatine wurden in so geringer Menge zur Nährlösung genommen, dass sie nicht gelatiniren, nicht zum festen Nährboden werden konnten, oder wenn auch genügend Hausenblase in der Nährlösung vorhanden war, um zu erstarren, dann wurde die Reincultur mit unreinem Material angefangen und ausserdem die Culturen in Brütwärme gehalten, bei der die Gallerte wieder flüssig werden musste. Und wie wenig die bisher auf Kartoffeln angestellten Culturen mit wirklichen Reinculturen zu thun haben, das zeigen die Wernich'schen Untersuchungen über *Micrococcus prodigiosus*, bezüglich deren ich auf die Arbeit von Gaffky (vergl. diese Veröffentl.) verweise, in welcher dieselben eine eingehende Erörterung finden.

Das meinem Verfahren Eigenthümliche besteht darin, dass es einen festen, womöglich durchsichtigen Nährboden verwendet, dass die Nährsubstrate möglichst variirt und den zu

züchtenden Organismen angemessen gewählt werden, dass alle Vorsichtsmaassregeln zum Schutze gegen nachträgliche Verunreinigungen überflüssig sind, dass die Weiterzüchtung in einer grösseren Zahl von Einzelculturen ausgeführt werden, von denen nur die reingebliebenen zur Fortsetzung der Cultur dienen und dass schliesslich eine fortwährende Controle über die Beschaffenheit der Culturen mit dem Mikroskop ausgeübt wird. Fast in jedem dieser einzelnen Punkte differirt also mein Verfahren von den bisher üblichen und namentlich auch von den oben erwähnten früheren Kartoffel- und Hausenblase-Culturen.

Es lag sehr nahe, die vortrefflichen Eigenschaften der Nährgelatinen auch für andere einschlägige Untersuchungen zu verwerthen und zwar überall da, wo es darauf ankommt, die Menge und die Arten der vorhandenen Mikroorganismen, z. B. in der Luft, im Wasser, Boden, an Verkehrsgegenständen, Lebensmitteln u. s. w. kennen zu lernen.

Luftuntersuchung. Wie leicht die Luft ihre Bestandtheile an die Nährgelatine abgiebt und mit welcher Bequemlichkeit und Sicherheit Zahl und Art der entwickelungsfähigen Organismen, die sich auf die Nährgelatine niedergelassen haben, gewissermaassen abzulesen sind, davon wird Jeder, der nur einige Gelatineculturen gemacht oder gesehen hat, überzeugt sein. Es würde, um vergleichbare Zahlen zu gewinnen, nur erforderlich sein, einer Nährgelatine von einem bestimmten Oberflächen-Gehalt beliebig grosse Quantitäten Luft so zuzuführen, dass letztere alle in ihr enthaltenen Keime an erstere abgeben müsste.

So einfach es anfangs erschien, diese Bedingung erfüllen zu können, so schwierig wurde doch die Ausführung. Es wurde zunächst versucht, Luft durch desinficirte Watte vermittelst eines Aspirators zu filtriren und den mit dem Luftstaub beladenen Wattepfropf in flüssig gemachte Nährgelatine zu bringen, darin zu vertheilen und vor dem weiteren Eindringen von Luftkeimen durch einen vollständig luftdichten oder nur staubdichten Verschluss zu schützen. Dieser Versuch gelang insofern, als die Bacterien- und Pilzcolonien gut zur Entwickelung kamen; aber im Innern der Gelatine und von den Fasern des Baumwollenpfropfs hin und wieder verdeckt, bei Weitem nicht das schöne und übersichtliche Bild gewährten, wie die an der Oberfläche einer Nährgelatine aus spontan abgelagerten Keimen entstandenen Colonien. Deswegen wurde dieses Verfahren vorläufig wieder aufgegeben. Es würde sich indessen, wenn es auch für allgemeine Luftuntersuchungen nicht recht passend zu sein scheint, für gewisse Fälle, wenn beispielsweise innerhalb eines kurzen Zeitraums ganz bestimmte Quantitäten Luft untersucht werden sollen, verwenden lassen. Dann wurde nach dem Vorgange von anderen bekannten Luftuntersuchungsmethoden die durch den Aspirator angesogene Luft gegen einen Tropfen Glycerin oder eine mit Glyceringelatine bestrichene Glasplatte geleitet und der Glycerintropfen oder die Glyceringelatine mit soviel Nährgelatine vermischt, dass, wie Vorversuche ergeben hatten, die Menge des beigemischten Glycerins keinen nachtheiligen Einfluss auf die Nährgelatine ausüben konnte. Andere zu gleicher Zeit über den Einfluss des Glycerins auf Mikroorganismen angestellte Versuche lehrten aber, dass das Glycerin auf Sporen von Bacillen und Pilzen und auf Hefe nicht nachtheilig wirkt, aber viele nicht in einem Dauerzustande befindliche, frisch getrocknete und noch entwickelungsfähige Bacterien schon nach ziemlich kurzer Zeit tödtet. Man erhält daher in der Nährgelatine fast nur Pilz-, Hefe- und Bacillencolonien. Eine richtige Auskunft über den Gehalt der Luft an entwickelungsfähigen Organismen erhält man auf diesem Wege also nicht, weil eine Anzahl derselben, ehe sie in Verhältnisse gebracht werden, in denen sie sich entwickeln könnten, vernichtet werden. Ausserdem gewann ich den Eindruck, als ob von dem starken Luftstrome, der hier zur Anwendung kommen muss, viele Staubtheile und Keime an dem Glycerin oder der Glyceringelatine vorbeigerissen und nicht an dieselbe abgegeben werden, denn gleich grosse Quantitäten Luft, zur selben Zeit und an demselben Orte durch Watte filtrirt, liessen, ganz abgesehen von den durch das Glycerin möglicherweise vernichteten Mikrokokken, viel mehr Pilzmycelien und Bacillencolonien zur Entwickelung kommen. Ferner wurde versucht,

den Luftstrom unmittelbar gegen die Gelatine zu leiten. Wenn dies vermittelst eines engen Rohres geschah, dann vertrocknete die Gelatine an ihrer Oberfläche gegenüber der luftzuführenden Oeffnung und es konnten dann natürlich keine Staubtheile mehr haften. Aber auch bei einer möglichst weiten Oeffnung gab die Luft nur wenige Keime an die Gelatineoberfläche ab, wie Controlversuche zeigten, und es konnte auch von dieser Einrichtung kein Gebrauch gemacht werden.

Die mangelhaften Erfolge, die ich mit dem mehr oder weniger schnell bewegten Luftstrome gehabt hatte, brachten mich darauf, die Bestandtheile der Luft sich aus einer wenig oder gar nicht bewegten Luftschicht absetzen zu lassen. Bis zu einem gewissen Grade konnte man dabei, wenn der ruhenden Luftschicht eine nicht zu geringe Höhe gegeben wurde, auf gleiche Luftmengen rechnen, die innerhalb eines gleichen Zeitraumes ihre festen Bestandtheile auf die Nährgelatine herabfallen lassen. Es war allerdings nothwendig, das Gefäss, in dem sich die Nährgelatine befindet, so einzurichten, dass ähnlich wie bei den früher geschilderten Objectträgerculturen die Oberfläche der Gelatine unmittelbar unter das Mikroskop gebracht werden konnte, ohne dass die auf ihr befindlichen Colonien dabei beschädigt wurden.

So entstand ein zwar sehr einfacher, aber, wie mir scheint, auch sehr leicht zu handhabender und für gewöhnliche Untersuchungen ausreichender Apparat. Derselbe ist folgendermassen eingerichtet. Am Boden eines cylindrischen Glasgefässes von 6 cm Durchmesser und 18 cm Höhe befindet sich die zur Aufnahme der Nährgelatine bestimmte flache Glasschale von 1 cm Höhe (ohne die Dicke des Bodens) und 5,5 cm Durchmesser. Um diese Glasschale zum Einfüllen der Gelatine und zur mikroskopischen Prüfung der Culturen aus dem Cylindergefässe bequem herausheben zu können, dient ein rechtwinklig gebogener schmaler Blechstreifen, auf dessen kurzen im Cylindergefässe quer gerichteten Schenkel die Glasschale gestellt wird und vermittelst desselben leicht herauf und hinunter bewegt werden kann. Für fortlaufende Luftuntersuchungen ist eine nicht zu geringe Anzahl solcher Gefässe, mindestens zwanzig, erforderlich. Mit einem festen grossen Wattepfropf wird das Cylinderglas, in welches die gut gereinigte Glasschale und der Blechstreifen eingesetzt sind, verschlossen und ein bis zwei Stunden lang einer Temperatur von 150° C. ausgesetzt. Nach dem Abkühlen wird unter möglichst kurzer Lüftung des Wattepfropfes die Glasschale mit Hülfe des Blechstreifens bis an den Rand des Cylindergefässes gehoben und mit sterilisirter Nährgelatine 0,5 cm hoch gefüllt, wieder hinabgelassen und das Gefäss mit dem Wattepfropf sogleich geschlossen. Wenn hierbei auch schon einzelne Keime aus der Luft des Arbeitsraumes in die Gelatine gerathen sollten, dann sinken sie unter und kommen nicht, wie die später auf der erstarrten Fläche abgelagerten Keime, auf der Gelatine, sondern im Innern derselben zur Entwickelung. Nachdem die Gelatine erstarrt ist, kann der Apparat sofort benutzt werden. An dem Orte, wo die Luft untersucht werden soll, wird der Wattepfropf abgenommen und so aufbewahrt, dass er inzwischen nicht verunreinigt wird; am einfachsten steckt man ihn in ein zweites in Reserve gehaltenes desinficirtes Cylindergefäss. Das Gefäss mit der Nährgelatine bleibt nun eine bestimmte Anzahl Stunden, z. B. 5, 10, 12 oder 24 Stunden offen stehen. Dann wird es durch seinen Wattepfropf wieder geschlossen, damit keine weiteren Keime hineingelangen können und bis zur vollständigen Entwickelung der Colonien in einer Temperatur von 20 bis 25° C. gehalten. Schon nach 24 bis 30 Stunden zeigen sich auf der Gelatine die ersten kleinen Colonien in Gestalt von Tröpfchen oder weisslichen kreisrunden Flecken. Am zweiten Tage ist die Entwickelung meistens schon so weit vorgeschritten, dass die mikroskopische Untersuchung und mit Hülfe einer Lupe die Zählung der einzelnen Colonien vorgenommen werden kann. Später darf dies nicht geschehen, weil sonst die Colonien zu gross werden und theilweise zusammenfliessen. Die Beschaffenheit der Gelatine ist für ein kräftiges Wachsthum so verschiedener Keime, wie sie die Luft mit sich führt, von wesentlicher Bedeutung, weil sie zu gleicher Zeit den Schimmel- und Sprosspilzen, sowie den Bacterien einen günstigen Nährboden abgeben soll. Bei einem gleichzeitig mit einer Reihe verschiedener

Nährgelatinen angestellten Versuch schien es mir, als ob eine mit Weizeninfus bereitete Gelatine sich am besten für die Luftuntersuchung eignen möchte, denn auf dieser kamen die verschiedenen Kategorien der Mikroorganismen am gleichmässigsten zur Entwickelung. Doch würde ich es für zweckmässig halten, wenn es nicht an Zeit und Arbeitskräften fehlt, möglichst verschiedene Nährsubstrate, z. B. gekochte Kartoffel, Pflaumeninfus-Gelatine, Blutserum-Gelatine, Weizeninfus-Gelatine in verschiedenen Gläsern zu gleicher Zeit dem Einflusse der Luft auszusetzen. Legt man nur auf den Nachweis von pathogenen Organismen Werth, z. B. bei der Untersuchung von Luft in Krankenzimmern, dann ist Fleischinfus-Pepton-Gelatine und ganz besonders Blutserum-Gelatine zu verwenden.

Mit Weizeninfus-Gelatine habe ich im Laufe des letzten Winters einige Wochen hindurch ziemlich regelmässige Luftuntersuchungen angestellt, um mich von der Brauchbarkeit der Methode zu überzeugen und über das Vorkommen von entwickelungsfähigen Keimen in der Luft einigermassen zu orientiren. Die bis jetzt geübten Verfahren der Luftuntersuchung mit Filtriren durch Watte, Aspiration gegen einen Glycerintropfen u. s. w. geben über die Menge der staubförmigen Bestandtheile der Luft ziemlich genaue Auskunft, auch gröbere Keime, wie Pilzsporen, lassen sich der Zahl nach bestimmen, aber die Zahl der entwickelungsfähigen Keime in der Luft konnte bis jetzt keine Untersuchungsmethode feststellen. Bis zu einem gewissen Grade leistet dies mein Verfahren ganz unzweifelhaft. Es lässt sich allerdings nicht sagen, in wie viel Luft die auf der Nährgelatine abgelagerten Keime enthalten waren, aber im Grossen und Ganzen wird in den einzelnen Versuchen immer ein ziemlich gleich grosses Quantum von Luft, auch wenn der Apparat im Freien bei mehr oder weniger bewegter Luft aufgestellt ist, seine staubförmigen Theile auf die Gelatine herabfallen lassen, weil der Glascylinder so hoch ist, dass in dem unteren Theile desselben die Luft immer als ruhend angenommen werden kann. Bei den obenerwähnten Versuchen, die, wie gesagt, nur als Orientirungsversuche gelten sollen, stellte sich heraus, dass in meinen Arbeitsräumen sehr viel weniger Bacterienkeime, aber mehr Schimmelpilzsporen als in der freien Luft, die vor einem nach dem Garten der Thierarzneischule gehenden Fenster untersucht wurde, sich befanden. In einem Sammlungszimmer, das zur Zeit, als die Gläser mit Nährgelatine aufgestellt waren, wenig betreten wurde, fanden sich noch erheblich weniger Bacterien und Pilze, als in den Arbeitsräumen; ganz vereinzelte Pilzmycelien und wenige Bacteriencolonien hatten sich in einem Glase entwickelt, das in einem Schranke mit nicht fest geschlossener Thür drei Tage lang geöffnet gestanden hatte; dagegen waren auf Gelatine, die neben den Behältern der Versuchsthiere aufgestellt gewesen war, fast ebenso viel Pilze und Bacterien gewachsen, wie auf der der freien Luft ausgesetzten. Die freie Luft aber enthielt selbst im Winter so viele entwickelungsfähige Keime der verschiedensten Mikroorganismen, dass nach 24 stündigem Oeffnen der Gläser sich oft weit über hundert Einzelcolonien auf der Gelatine gebildet hatten und letztere wie dicht besät mit Tröpfchen und kleinen Flecken aussah, nachdem die Entwickelung in Gang gekommen war. Auch bei nur 12 stündigem Oeffnen der Gläser schwankte die Zahl der Colonien noch zwischen vierzig und achtzig, also immer noch zu viel für eine schnelle Uebersicht und für die weitere Untersuchung der einzelnen Colonien. Hiernach scheint es mir am zweckmässigsten zu sein, die Gläser nur 4 bis 6 Stunden zu öffnen und in sehr verunreinigter Luft vielleicht noch kürzere Zeit.

Bei einer regelrechten Untersuchung der aus der Luft erhaltenen Organismen hätten dieselben in Reinculturen weitergezüchtet und auf ihre pathogenen und sonstigen Eigenschaften geprüft werden müssen. Dazu fehlte es mir damals an Zeit und ich behalte mir nach dieser Richtung hin sich erstreckende Untersuchungen für spätere Zeit vor.

Bodenuntersuchung. Sehr viel einfacher gestaltet sich die Untersuchung von Bodenproben auf ihren Gehalt an entwickelungsfähigen Keimen. Es bedarf dazu keiner besonderen Vorbereitungen. Die Probe wird strichweise und so, dass die einzelnen Partikelchen nicht zu

gehäuft liegen, auf Objectträgern, die einen Ueberzug von Nährgelatine haben, ausgestreut. Soll das nachträgliche Eindringen von Luftkeimen ganz ausgeschlossen werden, dann müsste eine ähnliche Vorrichtung oder dieselbe, wie bei der Luftuntersuchung angegeben ist, gebraucht werden. Uebrigens ist eine Verwechselung der mit der Erde ausgesäten Keime mit später darauf gefallenen kaum möglich, weil die aus ersteren entstehenden Colonien stets ihren Ausgangspunkt von den Sandkörnern und Erdbrocken nehmen. Auch für diese Untersuchungen ist eine Nährgelatine von Weizeninfus oder Fleischinfus mit Peptonzusatz besonders geeignet. Eine zwar nicht grosse Zahl von Bodenproben, die ich bisher auf ihren Gehalt an Mikroorganismen prüfen konnte, die aber ziemlich gleichmässige Resultate gab, lässt darauf schliessen, dass die oberen Erdschichten ganz ausserordentlich reich an Bacterienkeimen sind. Auffallenderweise sind dies vorwiegend Bacillen. In ganz frisch entnommener Erde finden sich daneben auch Mikrokokken, aber fast immer in der Minderzahl. In Erdproben, die stark verunreinigten Stellen, z. B. einem mit Düngerjauche imprägnirten Orte entnommen waren, übertrafen die Mikrokokken an Zahl die Bacillen und es traten auch Schimmelpilze auf; das ist aber nur ein locales Vorkommen. Die Bacillen dagegen scheinen in den oberen Culturschichten von bewohnten Gegenden und überall, wo Garten- und Ackerbau getrieben wird, ganz constant und immer in grosser Menge vorzukommen; sie fanden sich in Erde aus dem Thierarzneischulgarten in Berlin ebenso reichlich als in der Erde eines nicht mehr benutzten Begräbnissplatzes und in Bodenproben von Gärten und Aeckern, die weit von dicht bevölkerten Stellen entfernt liegen. Wenn man die Erdproben einige Wochen lang austrocknen lässt, dann verschwinden auch die wenigen Mikrokokken in den Culturen und es bleiben nur noch die Bacillen und zwar ebenso reichlich als vor dem Trocknen. Da es bekannt ist, dass die nicht in Dauerformen übergegangenen Mikroorganismen sich in getrocknetem Zustande nicht lange Zeit lebensfähig erhalten, so lässt sich aus jener Erscheinung schliessen, dass, während die Mikrokokken durch das Eintrocknen zu Grunde gingen, sich die Bacillen in Dauerformen, d. h. als Sporen in der Erde befinden mussten. Diese Annahme wird auch dadurch bestätigt, dass die Bacillenkeime in der Erde, wie es sich bei den Hitzedesinfections-Versuchen vielfach zeigte, hohen Hitzegraden, welche nur von Sporen überstanden werden, Widerstand leisteten. Es ist mir sehr wahrscheinlich, dass, weil in der Erde nur Sporen und keine oder nur sehr wenige Bacillen sich vorfinden, diese Sporen nicht an dem Orte entstanden sind, wo sie gefunden werden, sondern mit wirthschaftlichen Abfällen, Dungstoffen und Producten der Fäulniss und Zersetzung in die Erde gelangten; theilweise mögen sie auch mit dem Luftstaub von Verkehrsstätten, wo sie sich bilden konnten, weit weg getragen, auf der Erde abgelagert und mit den oberen Schichten derselben vermischt sein. Vorwiegend fanden sich in der Erde die schon früher erwähnten auf der Nährgelatine wurzelgeflechtähnliche Colonien bildenden Bacillen und Heubacillen, ausserdem aber mehr oder weniger zahlreich noch ungefähr sechs bis acht andere wohlcharakterisirte Bacillenarten.

Eine sehr auffallende Thatsache konnte ich, ebenfalls aber nur auf wenige Untersuchungen gestützt, constatiren, so dass ich vorläufig die Allgemeingültigkeit derselben nicht behaupten möchte. Es zeigte sich nämlich, dass der Reichthum an Mikroorganismen im Erdboden nach der Tiefe zu sehr schnell abnimmt und dass kaum einen Meter tief der nicht umgewühlte Boden fast frei von Bacterien ist. Selbst inmitten von Berlin habe ich in Erdproben, die frisch aufgeworfenem Baugrunde entnommen waren, in Tiefe von einem Meter keine Bacillen und nur ganz vereinzelte Colonien von sehr kleinen Mikrokokken nach der Aussaat auf Nährgelatine erhalten. In einem Falle stammte die Erde von einem unmittelbar neben der Panke in der Philippstrasse aufgeführten Neubau aus zwei Meter Tiefe, im Niveau des Pankwassers und kaum zwei Meter von demselben entfernt, und auch diese Probe zeigte sich ganz ausserordentlich arm an Mikroorganismen. Meine Untersuchungen sind allerdings, was wohl zu berücksichtigen ist, nur im Winter gemacht. Im Sommer könnten die Verhältnisse möglicherweise anders liegen. Doch müssten, wenn nach der jetzt überall gültigen Annahme im Grundwasser und den diesem benachbarten Erdschichten ein reges Leben von

Mikroorganismen und wenn auch nur im Sommer stattfindet, die Dauerformen dieser Organismen daselbst zurückbleiben und sich, ebenso wie sie in den oberen Schichten leicht nachzuweisen sind, auch in den unteren selbst im Winter auffinden lassen. Da das aber nicht der Fall ist, so scheint es mir überhaupt fraglich, ob in den tieferen Bodenschichten viele Mikroorganismen existiren.

Wasser-Untersuchung. Die Untersuchung von Wasser mit Hülfe der Nährgelatine bietet gleichfalls keine Schwierigkeiten. Man mischt ein bestimmtes Quantum des zu untersuchenden Wassers mit entsprechend vieler Nährgelatine, die flüssig gemacht ist, schliesst das Gefäss sofort mit desinficirter Watte und lässt die im Innern der Nährgelatine zur Entwickelung kommenden Colonien so gross werden, dass sie mit dem Mikroskop gut zu erkennen sind und dass von denselben Proben zum Weiterzüchten genommen werden können. Mit Rücksicht auf dieses letztere Erforderniss ist es zweckmässig, die Mischung in einem flachen Gefässe vorzunehmen und erstarren zu lassen, um die einzelnen Colonien möglichst ausgebreitet und leicht mit einer Präparirnadel erreichbar zu erhalten. Auch ist es vortheilhaft, eine möglichst klare und ungefärbte Nährgelatine, z. B. Weizeninfus-Gelatine, zu verwenden, weil es bei dieser Untersuchung gar nicht zu umgehen ist, dass sich die Colonien innerhalb der Gelatine entwickeln. Was die Menge des zuzusetzenden Wassers betrifft, so habe ich bei einzelnen Wasserproben mit 1 ccm Wasser auf 10 ccm Nährgelatine nur sehr vereinzelte Bacteriencolonien erhalten; in anderen waren die Mikroorganismen, darunter namentlich aus ganz kurzen Stäbchen, also den eigentlichen Bacterien gebildete Colonien und viele Schimmelpilzmycelien, so massenhaft, dass sie nicht mehr übersichtlich waren und das Wasser auf das 10- bis 20fache mit sterilisirtem Wasser verdünnt werden musste, um brauchbare Culturen zu gewinnen.

Staub-Untersuchung. Ein sehr interesantes Untersuchungsobject für Gelatineculturen ist der Staub. Anfangs glaubte ich aus demselben eine Musterkarte von allen möglichen durch die Luft verschleppten Mikroorganismen erhalten zu können, wurde aber bald gewahr, dass die Wirklichkeit meinen Erwartungen nicht entsprach. Aus frisch abgelagertem Staube entwickeln sich allerdings noch ziemlich viele Pilzmycelien und einzelne Bacillen, aber im Verhältnisse zu den unmittelbar aus der Luft auf die Gelatine gelangten zahlreichen Keimen schon ziemlich wenig Mikrokokken. Alter Staub dagegen, der im Innern von Möbeln oder in ganz abgelegenen Winkeln sich ansammelte, lässt auf Nährgelatine fast nur Pilzmycelien und ziemlich viele Bacillen zur Entwickelung kommen. Also auch hier bestätigt es sich wieder, dass die grosse Mehrzahl der Luftkeime ziemlich schnell im eingetrockneten Zustande abstirbt, und dass nur die Dauerformen der Pilze und Bacillen, ganz besonders aber die der letzteren lebensfähig bleiben und sich allmälig anhäufen.

Untersuchung verschiedener Objecte. Es bedarf nur eines kurzen Hinweises, dass in gleicher oder ähnlicher Weise wie Luft, Wasser, Boden, Staub auch die verschiedensten anderweitigen Objecte auf ihren Gehalt an entwickelungsfähigen Mikroorganismen geprüft werden können. Das Arbeitsfeld, welches durch dieses neue Untersuchungsverfahren eröffnet wird, ist ein so grosses, dass es sehr wünschenswerth ist, wenn es von recht vielen Kräften in Angriff genommen würde. Ausser regelmässigen und gründlichen allgemeinen Luft-, Wasser- und Boden-Untersuchungen mit besonderer Berücksichtigung des Grundwassers und Regenwassers an recht vielen verschiedenen Orten und zu verschiedenen Zeiten, wäre es nothwendig, Specialuntersuchungen über Luft in bewohnten und unbewohnten Räumen, Schulzimmern, Krankenzimmern, Leichenhäusern, Arbeitsräumen, namentlich in solchen, welche überfüllt sind oder wo leicht zersetzbare und fäulnissfähige Substanzen verarbeitet werden u. s. w. auszuführen. Ferner würde Mauerwerk, Holzwände, Tapeten, Kleidung, alle möglichen Verkehrsgegenstände, Geld, besonders auch Nahrungsmittel, z. B. Milch, Wurst

(mit Rücksicht auf die in letzter Zeit wieder häufigeren Fälle von Wurstvergiftung), kurz alles, was als Aufenthaltsort oder Träger von pathogenen Mikroorganismen dienen kann, auf seinen Gehalt an letzteren zu untersuchen sein.

Beschreibung der Photogramme.

Auf einige bei der Betrachtung und Beurtheilung der Photogramme zu berücksichtigende Punkte habe ich vorher aufmerksam zu machen.

Der Mikroskopiker setzt, während er ein Object betrachtet, fast unaufhörlich die Mikrometerschraube in Bewegung, bald nähert er den Tubus, bald entfernt er denselben von dem in's Auge gefassten Punkt und erhält dadurch in rascher Folge nicht allein den Gesichtseindruck des fraglichen Gegenstandes und alles dessen, was mit diesem in derselben Ebene liegt, sondern er orientirt sich sofort noch über das, was unmittelbar darüber und darunter liegt. Auf diesen Vortheil muss die Photographie verzichten; denn das photographische Bild kann immer nur eine einzige sehr dünne Schicht des Präparates wiedergeben. Was genau in dieser Ebene liegt, erscheint mit scharfen Umrissen, alles Andere, je nachdem es mehr oder weniger von der scharf eingestellten Ebene entfernt ist, undeutlich, noch weiterhin sieht es verschwommen aus und die in der Richtung der Mikroskopaxe am weitesten von dem fixirten Punkt gelegenen Gegenstände erzeugen im Bilde nur noch einen Schatten. Je stärker die Vergrösserung ist, um so mehr macht sich das geltend. Auf den ersten Blick erscheint deswegen das photographische Bild von Präparaten, die eine gewisse Dicke haben, also von allen Gewebsschnitten, etwas fremdartig. Es befinden sich darin viele Gegenstände mit undeutlichen Umrissen, dann Schatten, die gar nicht erkennen lassen, woher sie entstanden sind. Es sind dies die nicht in der eingestellten Ebene gelagerten Kerne, Bacterienhaufen u. s. w., denen man weiter keine Beachtung zu schenken hat. Nur die Stellen des Photogramms sind in's Auge zu fassen, die scharf eingestellt gewesen sind. Oft ist es nur eine kleine Gruppe von Bacterien, welche zu gleicher Zeit in eine Gesichtsebene zu bringen waren; diese wenigen Individuen genügen aber vollkommen, um die Grössenverhältnisse, Gruppirung u. s. w. zu kennzeichnen. Um übersichtliche Bilder von der Lagerung der Bacteriencolonien im Innern von Organen zu gewinnen, sind schwächere Vergrösserungen, am besten hundertfache geeignet.

Bei dieser Gelegenheit will ich noch einmal in Erinnerung bringen, dass Zellenkerne sowohl wie Bacterien nicht das gleiche Aussehen haben, wenn sie diffus am Deckglas gefärbt oder mit der Kernfärbung behandelt sind. Besonders auffallend ist dies bei den Milzbrandbacillen, die bei Kernfärbung in Gewebsschnitten ein wesentlich anderes Bild geben, als am Deckglas. Vergleiche kann man auf den Photogrammen also auch nur an solchen Bacterien anstellen, die in gleicher Weise präparirt und gefärbt sind. Um übrigens die so nothwendigen vergleichenden Beobachtungen der pathogenen Bacterien zu erleichtern, habe ich fast durchweg gleichstarke Vergrösserungen gewählt. Die Uebersichtsbilder sind bei hundertfacher, die stark vergrösserten bei siebenhundertfacher Vergrösserung aufgenommen. Noch stärkere Vergrösserungen gewähren, wie mir vielfache Versuche gezeigt haben, keinen Nutzen, da bekanntlich die Grenze des Leistungsvermögens unserer besten Systeme ungefähr bei der angegebenen Vergrösserung erreicht ist.

Die Photogramme sind sämmtlich mit Seibert'schen Objectivsystemen aufgenommen; die schwächsten Vergrösserungen mit dem photographischen Objectiv 1 Zoll, die hundertfach vergrösserten mit dem photographischen Objectiv $^1/_4$ Zoll und die siebenhundertfach vergrösserten mit dem Immersionssystem VII.

Bei der Vorbereitung für den Lichtdruck, die in Entfernung des Negativlacks und Uebertragung des Negativs auf Gelatinefolie bestand, sind manche Negative beschädigt, einzelne haben auch an der ursprünglichen Schärfe etwas eingebüsst. Diese und andere Fehler, die beim photographischen Verfahren niemals ganz zu vermeiden sind und vom

Fach-Photographen durch Retouche verbessert werden, zu beseitigen, habe ich mit Absicht vermieden. An sämmtlichen Bildern ist auch nicht der allergeringste verbessernde oder sonstwie abändernde Eingriff vorgenommen; sie entbehren jeder Art von Retouche und geben das unverfälschte und vollkommen naturgetreue Bild der Objecte wieder. Ich muss deswegen den Beschauer bitten, die hier und da, namentlich an den Ecken und Rändern der Bilder befindlichen Streifen, Flecken u. s. w., die sich übrigens immer leicht als nicht zum eigentlichen Bilde gehörig erkennen lassen, übersehen oder wenigstens für einen Beweis des rein objectiven Charakters der Bilder nehmen zu wollen.

Tab. I. Photogr. 1—6 und Tab. II. Photogr. 7—10. Diese zehn Photogramme beziehen sich sämmtlich auf das Erysipelas des Menschen.

Bekanntlich ist schon von verschiedenen Forschern das Vorkommen von Mikrokokken in der erysipelatös veränderten Haut constatirt. Zuerst von v. Recklinghausen und Lukomsky *), dann von Billroth und Ehrlich **), von Tillmanns ***) und zuletzt von M. Wolff. †) Doch wurden die Mikrokokken von ihnen nicht in allen Fällen gefunden. Auch lauten die Angaben über den Fundort verschieden. Theils sollen die Mikrokokken in den Lymphgefässen, theils in den Blutgefässen sich befunden haben. Wolff weicht noch insofern von den anderen Autoren ab, dass er in Blutproben, aus dem Erysipelrande entnommen, neben Mikrokokken auch Stäbchenformen gefunden haben will. Im Ganzen genommen herrscht also noch eine gewisse Unsicherheit über die Constanz des Mikrokokkenbefundes. Inwieweit übrigens die Angaben von Wolff Beachtung verdienen, darüber habe ich mich im Texte dieser Arbeit schon ausgesprochen und verweise auf die betreffende Stelle.

Es bot sich mir die Gelegenheit, acht Fälle von Erysipelas zu untersuchen, davon drei an Leichen und fünf an Lebenden. Den Lebenden wurde ein kleines, ungefähr linsengrosses Stückchen Haut vom Erysipelrande und zwar da, wo der Process im schnellsten Fortschreiten begriffen war, excidirt. Den Leichen wurden die Hautstücke ebenfalls vom Rande des Erysipels wenige Stunden nach dem Tode entnommen. Die Hautstückchen kamen sofort nach der Excision in absoluten Alkohol. In allen diesen Fällen wurden am Rande des Erysipels in den Lymphgefässen und den benachbarten Bindegewebsspalten Mikrokokken gefunden. In den leichteren Fällen waren die Mikrokokken nur in spärlicher Zahl zwischen den Lymphzellen vertheilt, so dass sie oft nur schwer zu finden waren und ohne die Anilinkernfärbung zweifellos gar nicht nachzuweisen gewesen wären. In zwei der tödtlich verlaufenen Fälle waren die Mikrokokken in den Lymphgefässen in grosser Menge, sie lagen in dichtgedrängten Massen, zwischen denen keine Lymphzellen mehr zu erkennen waren und die dadurch erzeugten Bilder glichen einigermassen denen von Lukomsky, welcher nur tödtliche Erysipelasfälle untersuchte. Die Mikrokokken waren in allen Fällen von gleicher Grösse und gleicher Gruppirung, öfters kurze Ketten bildend. In den Blutgefässen habe ich sie in keinem Falle von Erysipelas gesehen; auch vermisst man sie in den vom Erysipelrande entfernteren Lymphgefässen. Wenn man sie mit Sicherheit treffen will, muss also der Rand untersucht werden. Stäbchenartige Gebilde, wie Wolff sie gefunden haben will, sind mir in keinem Falle zu Gesicht gekommen.

Die neun ersten Photogramme gehören ein und demselben Falle von ganz typischem Wunderysipel an. Kurz skizzirt verhielt sich derselbe folgendermassen: An einem schlecht geheilten Amputationsstumpf des Unterschenkels war eine Knochenresection unter Anwendung des antiseptischen Verfahrens gemacht. Am zweiten Tage trat Fieber ein und stieg am dritten Tage zu bedeutender Höhe. Der Lister'sche Verband wurde abgenommen. Die Operationswunde war in den oberen zwei Drittheilen verklebt, zwischen den Rändern des unteren Drittels fand sich eine mässige Menge gelblichen dünnen Eiters. Von letzterem

*) Virchow's Archiv Bd. 60 S. 418.

**) Langenbeck's Archiv Bd. XX. S. 418.

***) Verhandlungen der Deutschen Ges. f. Chirurgie 1878 S. 211.

†) Virchow's Archiv Bd. 81 S. 193.

wurden einige Tröpfchen auf Deckgläsern ausgestrichen und in Alkohol gelegt. Auch wurden einige Glaszellen (hohle Objectträger) mit demselben Eiter beschickt. Von der Operationswunde (in der Mitte des Unterschenkels) erstreckte sich bis dicht unterhalb des Knies dunkle Röthung und Schwellung der Haut, welche mit einem scharf abgeschnittenen Rande endigte. Am vierten Tage hatte sich das Erysipel bis oberhalb des Knies ausgebreitet und erreichte am fünften Tage die Grenze zwischen oberem und mittlerem Drittel des Oberschenkels. Jetzt wurde ein Hautstückchen vom Rande excidirt und sofort in absoluten Alkohol gelegt. Das Erysipel schritt in den nächsten Tagen bis zur Kreuzgegend fort und hörte dann auf. Die Wunde heilte ebenfalls in der Folge ziemlich schnell. Photogramm 1, 2, 3 der Tab. I. zeigen nun Schnitte aus jenem Hautstückchen bei 100facher Vergrösserung. No. 1 liegt dicht vor dem rothen Rande des Erysipels, No. 2 entspricht dem Rande und No. 3 liegt ungefähr 2—3 mm davon entfernt. Im oberen Theil der Bilder erscheint die in Folge der plötzlichen Alkoholeinwirkung stark gerunzelte Epidermis, darunter in No. 1 die in geringem Maasse von Kernen durchsetzte Cutis, in welcher einige zum Theil in der Längsrichtung vom Schnitt getroffene Lymphgefässe durch ihre Anfüllung mit Kernen auffallen. In No. 2 ist der Kernreichthum der Cutis schon erheblich stärker als in No. 1, und in No. 3 ist derselbe, wenigstens soweit der Schnitt sich in der Ebene der scharfen Einstellung befindet, sehr reichlich. Die Veränderung der Lymphgefässe vor dem Erysipel-Rande, wie No. 1 es zeigt, liess schon vermuthen, dass die Krankheitsursache hier schon zur unmittelbaren Wirkung gekommen sei und in der That zeigen sich bei 700facher Vergrösserung schon vereinzelte oder auch paarweise verbundene Mikrokokken in diesen Lymphgefässen. No. 6 giebt das auf No. 1 links befindliche lange Lymphgefäss zum Theil wieder und es sind schon in der einen Ebene, welche das Photogramm fixirt, eine nicht geringe Anzahl zwischen und neben den Kernen der Lymphkörperchen befindliche Mikrokokken zu sehen. Die Mikrokokken werden in den Lymphgefässen reichlicher, wenn die Erysipelgrenze, also die geröthete Hautparthie, untersucht wird. No. 7 auf Tab. II. (700 X) zeigt ein solches fast quer durchschnittenes Lymphgefäss. An manchen Stellen wuchern die Mikrokokken in die benachbarten Bindegewebsspalten hinein, wie auf Tab. II. No. 8 und 9 (700 X) zu sehen ist. Die dunklen Schatten am oberen Rande von No. 8 und 9 und an der rechten Seite von No. 7 der Tab. II. gehören der untersten Schicht des *Rete Malpighii* an. Es spielt sich der eigentliche Wachsthumsprocess der Mikrokokken bei leichteren Erysipelfällen also nur in den am oberflächlichsten gelegenen Lymphgefässen ab. Wie erwähnt, wurde am dritten Tage der Krankheit der Eiter zur weiteren Untersuchung an Deckgläsern ausgestrichen. Auf Tab. I. giebt No. 4 (700 X) ein Bild desselben. Zwischen den Kernen der Eiterkörperchen liegen die paarweise, höchstens bis zu vieren verbundenen Mikrokokken, welche in der Grösse den in den weit von der Wunde entfernten Hautstückchen gefundenen vollständig gleichen. Tab. I. No. 5 (700 X) zeigt die in der Glaszelle zur Weiterentwickelung und Vermehrung gekommenen Mikrokokken des Eiters.

Tab. II. No. 10. 700 X. Schnitt aus der Haut eines an Kopferysipelas Verstorbenen. (Das Material verdanke ich Herrn Dr. Ehrlich.) Reichliche Anhäufung von Mikrokokken in einem erweiterten Lymphgefäss. Rechts unten befindet sich der Querschnitt eines Blutgefässes, welches ganz frei von Mikrokokken ist.

Tab. II. No. 11. 100 X. *Endocarditis ulcerosa.* Mikrokokkenhaltiges Gefäss im Herzmuskel. Geringe Kernansammlung in der Umgebung.

Tab. II. No. 12. 700 X. Die rechte Hälfte des in No. 5 abgebildeten Gefässes. An den dünneren Stellen löst sich die dunkle Masse bei starker Vergrösserung in die einzelnen Mikrokokken auf.

Tab. III. No. 13. 100 X. *Endocarditis ulcerosa.* Herzmuskel. Theilungsstelle eines Gefässes durch Mikrokokken verstopft. Starke Kernanhäufung rund umher.

Tab. III. No. 14. 700 X. *Endocarditis ulcerosa.* Mikrokokkenhaufen in einem Harnkanälchen. Vom Epitel des Harnkanälchens sind nur noch Reste am linken Rande vorhanden.

In der Nachbarschaft befanden sich noch weitere mit Mikrokokken mehr oder weniger gefüllte Harnkanälchen, die sich um einen mit Mikrokokken dicht gefüllten und von denselben gesprengten Glomerulus gruppirten.

Tab. III. No. 15 und 16. 100 X. Schnitte aus der Niere von Menschenpocken. Gefässe mit Mikrokokken gefüllt.

Tab. III. No. 17. 700 X. Menschenpocken. Lebercapillaren mit Mikrokokken.

Tab. III. No. 18. 700 X. Menschenpocken. Nierencapillare mit Mikrokokken.

Tab. IV. No. 19. 700 X. Zahnspirochäten. Zum Vergleich mit den daneben befindlichen Recurrensspirochäten.

Tab. IV. No. 20. 700 X. Blut von einem Recurrenskranken, welches zur Impfung eines Affen diente.

Tab. IV. No. 21. 700 X. Recurrensspirochäten in Knäuelform. Aus Indien. Nach einem von Dr. H. V. Carter aus Bombay erhaltenen Präparat. (In Glycerinbraun eingelegt; deswegen erscheinen die rothen Blutkörperchen fast farblos, während die anderen in Canadabalsam eingelegten Deckglas-Präparate von Recurrens die rothen Blutkörperchen dunkel gefärbt zeigen).

Tab. IV. No. 22. 700 X. Recurrensspirochäten aus dem Blute des mit dem Blute No. 20 geimpften Affen. (Leider ging ein kräftigeres und weit schärferes Negativ von diesem Bilde bei der Präparation zu Grunde und es musste deswegen dieses nicht die volle Schärfe besitzende Bild als Ersatz genommen werden).

Tab. IV. No. 23. 700 X. Schnitt aus dem Gehirn des mit Recurrensblut geimpften und auf der Höhe der Krankheit getödteten Affen. Zwei Capillaren ziehen sich von oben nach unten. In der rechts befindlichen liegt eine der Längsrichtung des Gefässes entsprechende, in der Mitte schwach geknickte Spirochäte. In solcher Ausdehnung, wie No. 5 die Spirochäte zeigt, bekommt man sie nur selten zu Gesicht, weil es ein Zufall ist, dass die Längsachse der Spirochäte vollständig in der Einstellungsebene liegt. Meistens sind nur einige Windungen der Spirochäten einigermassen deutlich zu sehen. Um von diesem, dem gewöhnlichen Bilde der Spirochäten in Gewebsschnitten eine Vorstellung zu geben, soll

Tab. IV. No. 24. 700 X, dienen; ebenfalls ein Schnitt aus dem Gehirn desselben Affen, und zwar vom Rande. Den unteren Theil des Bildes nimmt die dunkelgefärbte Hirnsubstanz ein, dann folgt eine hellere Partie, die *Pia mater,* innerhalb welcher ein grösseres Gefäss quer durchschnitten ist. Die Ränder des Gefässes erscheinen bei dieser Einstellung nur am linken unteren Rande einigermassen deutlich. In der Nähe dieses unteren Randes befinden sich zwei schräg von unten rechts nach oben links verlaufende Spirochäten, von denen 3 bis 4 Windungen deutlich zu unterscheiden sind.

Tab. V. No. 25. 100 X. Schnitt aus der Leber von einem an Impfmilzbrand gestorbenen Kaninchen. Alle Capillaren sind mit Milzbrandbacillen mehr oder weniger gefüllt.

Tab. V. No. 26. 700 X. Aus demselben Präparat wie das vorhergehende Photogramm. Bei der stärkeren Vergrösserung erscheinen in dem die Leberzellen umspinnenden Capillarnetz die einzelnen Milzbrandbacillen.

Tab. V. No. 27. 700 X. Schnitt aus der Niere von einem milzbrandigen Kaninchen. Glomerulus mit Milzbrandbacillen.

Tab. V. No. 28. 500 X. Aus demselben Präparat, wie das vorige. Bei der schwächeren Vergrösserung erscheint der mit Bacillen theilweise dicht gefüllte Glomerulus plastischer, als der des vorhergehenden Photogrammes.

Tab. V. No. 29 und 30. 700 X. Milzbrandbacillen aus der Milz einer an Impfmilzbrand gestorbenen weissen Ratte; neben dunkelgefärbten lebensfähigen befinden sich in demselben Bacillus abgestorbene Glieder, die sich dadurch auszeichnen, dass sie die Anilinfarben nicht mehr annehmen, etwas gequollen aussehen und fast den Eindruck machen, als wäre es eine ihres Inhaltes beraubte Hülle.

Tab. VI. No. 31. 20 ×. Das eine Ende eines Seidenfadens, an welchem Milzbrandsporen angetrocknet waren und welcher 24 Stunden in einer concentrirten wässrigen Lösung von schwefliger Säure (11,436 Gewichtsprocent) gelegen hatte. Auf Nährgelatine gebracht entwickelten sich die Milzbrandsporen trotz dieser Behandlung in der üppigsten Weise zu langen lockigen und vielfach verschlungenen Fäden und Fadenbündeln. Bei dieser schwachen Vergrösserung sind die einzelnen Fäden kaum zu erkennen und die sichtbaren Linien bestehen fast durchweg aus Fadenbündeln. Dies Photogramm giebt die höchst charakteristische Form, in welcher die bei den Desinfectionsversuchen so vielfach zur Verwendung gekommenen Milzbrandsporen auf Nährgelatine auswachsen, in ausgezeichneter Weise wieder.

Tab. VI. No. 32 und die übrigen Photogramme dieser Tafel, sowie die drei ersten der nächsten Tafel verdanken ihren Ursprung einem Fall von Milzbrand beim Menschen, der in vielfacher Beziehung Interesse erweckt. In meinem früheren Wirkungskreise hatte ich nicht selten Gelegenheit, Milzbrand-Infection beim Menschen zu beobachten. Die Form, unter welcher die Krankheit auftrat, war fast immer eine erhebliche Schwellung und Röthung, welche von der im Gesicht, am Hals, am Vorderarm oder Hand gelegenen Infectionsstelle sich mehr oder weniger ausbreitete. Die Haut an der Infectionsstelle selbst war, wenn die Kranken ärztliche Hülfe suchten, meistens schon in weiter Ausdehnung gangränös, bisweilen mit blaurothen oder schwärzlichen Blasen umgeben. Die Diagnose liess sich mit Sicherheit nur durch den Nachweis der Milzbrandbacillen an der Infectionsstelle und durch die erfolgreiche Infection von Versuchsthieren feststellen. Ganz abweichend von diesen Milzbrandformen verhält sich der uns hier beschäftigende Fall. Bei einer kräftigen Viehmagd aus einem Orte, in welchem alljährlich der Milzbrand unter Schafen, nicht selten auch unter dem Rindvieh Verheerungen anrichtete, hatte sich im Laufe von acht Tagen in der oberen Sternalgegend aus einer kleinen Kratzwunde eine eigenthümliche Geschwulst gebildet. Am einfachsten lässt sich die Gestalt dieser Geschwulst mit derjenigen einer Pocke, welche ganz ungewöhnliche Dimensionen angenommen hat, vergleichen. In der Mitte eine tiefe Depression von schwärzlicher Farbe, die von einem gelblichweiss gefärbten breiten Wulst umgeben ist. Letzterer hat eine ziemlich feste Consistenz und ist strahlenförmig gefurcht; am äusseren Rande ist die Geschwulst noch von Epidermis bekleidet; nach innen zu hat sich die Epidermis abgelöst. Die dadurch blosgelegte Geschwulstmasse secernirt eine fast wasserklare Flüssigkeit in solcher Menge, dass dieselbe tropfenweise herabsickert. Die Grösse der Geschwulst entsprach ungefähr derjenigen einer kleinen mitten durchgeschnittenen Kartoffel. Diese in ihrem Aussehen ganz eigenartige Affection erinnerte, zumal die Geschwulst gegen die nicht geröthete oder sonstwie veränderte Umgebung ganz scharf abgesetzt war, nicht im Entferntesten an die bekannten Erscheinungen einer Milzbrandaffection. Als nun aber etwas von der Substanz an der Oberfläche des Knotens abgeschabt und mikroskopisch untersucht wurde, zeigten sich neben zahlreichen anderen Bacterien, namentlich Mikrokokken, ganz unverkennbare Milzbrandbacillen. Zur weiteren Sicherung der Diagnose wurde noch ein Kaninchen am Ohr und zwei Mäuse an der Schwanzwurzel mit der Geschwulstmasse geimpft. Die Kranke erschien übrigens sehr schwach, klagte über die heftigsten Schmerzen in der Brust und hatte eine Körpertemperatur von 40,9° C. Ueber den weiteren Verlauf kann ich mich kurz fassen. Der Knoten wurde sofort exstirpirt, die Operationswunde mit 5 pCt. Carbolsäurelösung behandelt und in die Umgebung ausserdem 2proc. Carbolinjectionen mit der Pravaz'schen Spritze gemacht. Es erfolgte danach schnelle Heilung. Die Geschwulst war nach der Excision sofort in Alkohol gelegt und die weitere mikroskopische Untersuchung bestätigte vollständig die vorläufige Diagnose auf Milzbrand. Auch die geimpften Thiere erlagen und zwar die Mäuse am nächsten, das Kaninchen am darauffolgenden Tage dem regelrechten Milzbrand; sie hatten sämmtlich stark vergrösserte Milz und zahllose Milzbrandbacillen in der Milz, Lunge und im Herzblut. Von diesen Thieren wurden dann noch weitere Impfungen vorgenommen, welche in der gewöhnlichen Weise typischen Milzbrand hervorriefen. Die hier beschriebene Milzbrandform scheint

beim Menschen nur sehr selten vorzukommen. Die Schriftsteller führen allerdings eine sogenannte Pockenform des Milzbrandes auf, die sich aber doch wesentlich anders verhält; es soll eine erbsen- bis bohnengrosse Blase von zelligem Gefüge, in der Mitte mit einer Vertiefung versehen auf der Höhe einer erysipelatösen Geschwulst stehen. In unserem Falle war die Pocke, wenn ich sie so nennen soll, bedeutend grösser und die Umgebung ganz unverändert, also kann man sie nicht unter die gewöhnlich so bezeichnete Pockenform des Milzbrandes subsummiren. Unter den zahlreichen Fällen von Milzbrand, die in der Literatur zu finden sind, habe ich nur einen einzigen angetroffen, der dem von mir beobachteten vollständig gleicht. Matthy*) giebt folgende Schilderung davon: „Ein junger Mensch hatte auf jedem Arm eine Blatter, dunkelbraun von Farbe, in der Mitte eine schwarze Vertiefung, wie bei den Pocken, und die Narben der Haut (unter Narben sollen wohl die strafferen Bindegewebszüge derselben verstanden sein) in die Höhe gedehnt, so dass sie Einschnitte derselben bildeten und die Blattern vollkommen die Gestalt einer gefurchten Pastete oder einer Art von Liebesäpfel darstellte. Ich scarificirte diese, legte *Diachylon comp.* darüber, empfahl ihm Branntwein zu trinken, und so genas er.“ Einige Beschreibungen von Milzbrandformen, die Hunnius, Glanstroem und andere von Heusinger citirte Autoren geliefert haben, machen es allerdings wahrscheinlich, dass dieselbe Form hin und wieder schon anderweitig beobachtet ist, immerhin aber zu den seltenen Milzbrandformen gehört. Der von Matthy gewählte Vergleich des Carbunkels mit einer Art von Liebesäpfeln, womit er unzweifelhaft die heutzutage auf jedem Gemüsemarkt zu findenden Tomaten meint, ist ausserordentlich zutreffend, wenigstens in Bezug auf Grösse und Gestalt der Geschwulst. Auf die Bemerkung Matthy's über die bei seinem Kranken befolgte Heilmethode mache ich noch ganz besonders aufmerksam als ein recht schlagendes Beispiel, dass der Milzbrand beim Menschen auch bei einer so widersinnigen Behandlung, wie die von Matthy angewendete, bei welcher durch das Scarificiren des Knotens die tieferen noch nicht inficirten Gewebsschichten der Infection durch die an der Oberfläche wuchernden Milzbrandbacillen ausgesetzt werden mussten, dennoch heilen kann. Auch in meinem Falle wäre die Heilung möglicherweise ohne Exstirpation und Carbolsäurebehandlung eingetreten und ich bin weit davon entfernt, dieser Behandlung eine hervorragende Heilwirkung zuzuschreiben. Wenn der Matthy'sche Kranke nach französischer Methode anstatt mit Branntwein mit Jod innerlich behandelt worden wäre, dann würde selbstverständlich dem Jod der Heileffect zugewiesen werden.

Was nun die mikroskopische Beschaffenheit des Tumors betrifft, so bestand derselbe aus einer eigenthümlichen fibrinösen Substanz, in welcher ausser den gleich zu beschreibenden Bacterien keine Gewebselemente zu unterscheiden waren. Nur am Grunde des Knotens, wo er in das aufgelockerte Cutisgewebe überging, fanden sich Kerne von Rundzellen. So weit die Epidermis der Geschwulstmasse fest anlag, waren nur Milzbrandbacillen in die fibrinöse Substanz eingebettet, und zwar am dichtesten unmittelbar unter der Epidermislage, und von da aus meistens in dichtgedrängten Zügen in das Innere der Geschwulst sich hineinerstreckend.

Tab. VI. No. 32. 100 X. Zeigt einen Schnitt aus einer solchen Randpartie der Geschwulst, nach oben zu die Epidermis, darunter die, wie selbst bei dieser geringen Vergrösserung schon auffällt, eigenthümlich gekräuselten und verschlungenen Bacillen. Je weiter man die Bacillen nach dem Innern der Geschwulst zu verfolgt, um so mehr fällt die Abweichung der Bacillen von der gewöhnlichen bekannten Form des geraden, glatten Stäbchens auf. Sie werden immer stärker gekrümmt, verzerrt, sehen (bei starker Vergrösserung) gequollen und an den Rändern rauh aus und verlieren immer mehr das Vermögen, Farbstoffe aufzunehmen, kurz sie zeigen alle diejenigen Veränderungen, welche man an absterbenden oder in ungeeigneter z. B. schwach saurer Nährflüssigkeit kümmerlich

*) Briefe über wichtige Gegenstände der Therapie, 1801 S. 170 (citirt nach Heusinger, Milzbrandkrankheiten).

wachsenden Milzbrandbacillen zu sehen gewohnt ist. Etwas Aehnliches wurde schon von den Bacillen in der Rattenmilz erwähnt (cf. Tab. V. No. 29 und 30). Dieses Verhalten der Bacillen lässt darauf schliessen, dass die tieferen Schichten der Geschwulst ihnen sehr schlechte Bedingungen für ihre Ernährung bieten, und daher mag es auch gekommen sein, dass die Krankheit durch eine so verhältnissmässig lange Zeit ganz local geblieben war. Wie man sich dieses merkwürdige Factum erklären soll, ob hier individuelle Verhältnisse, etwa besonders geringe Empfänglichkeit der Kranken für die Milzbrandkrankheit, wie sie bei manchen Menschen unzweifelhaft vorhanden ist, oder ob eine Mitwirkung der gleich zu erwähnenden anderen Bacterien hier im Spiele ist, muss ich dahingestellt bleiben lassen. Alle die Stellen der Geschwulstoberfläche, welche von Epidermis entblöst waren und sich in einem feuchten Zustande befanden, waren von verschiedenen anderen Bacterienarten in Beschlag genommen, welche die Milzbrandbacillen daselbst theilweise oder ganz verdrängt hatten. Dass sie erst nach den Milzbrandbacillen sich angesiedelt hatten, ging daraus hervor, dass letztere immer in den tieferen Schichten unter den an der Oberfläche üppig wuchernden Bacterien, Mikrokokken u. s. w. noch deutlich, wenn auch meistens in der oben angegebenen Weise verändert, zu erkennen waren. Diese nachträglich angesiedelten Schmarotzer, denen offenbar durch die pathogenen Milzbrandbacillen erst das Terrain zugänglich gemacht werden musste, haben insofern ein hohes Interesse, als sie uns Beispiele von Bacterien bieten, für welche unter Umständen die Gewebssäfte des lebenden menschlichen Körpers einen günstigen Nährboden abgeben können. Selbstverständlich bleibt vorläufig jedes Urtheil darüber, ob diese Bacterien gelegentlich auch selbstständig pathogen im menschlichen Körper auftreten können oder ob ihnen immer nur eine secundäre Rolle, wie im vorliegenden Falle, beschieden ist, *in suspenso*. Es fanden sich unter denselben einige, welche eine ganz auffallende Aehnlichkeit mit schon bei Pocken und Malaria gefundenen, angeblich pathogenen Bacterien haben, dass es mir nothwendig schien, gerade von diesen Photogramme zu veröffentlichen, um die Frage anzuregen, ob die erwähnten als pathogen angesprochene Bacterien, ebenso, wie in meinem Falle, nur secundäre und wie ich vorläufig annehmen muss, bedeutungslose Verunreinigungen eines ursprünglich reinen Krankheitsprocesses sind in demselben Sinne, wie man von einer Verunreinigung einer Bacterien-Reincultur spricht, oder ob die in meinem Falle gefundenen Bacterien zufällig dahin verirrte, ursprünglich gleichfalls selbstständig pathogene Bacterien sind. Es wäre, wenn die Frage im letzteren Sinne entschieden werden sollte, allerdings etwas auffällig, dass zu einer Milzbrandinfection sich noch ganz zufällig Pocken- und Malaria-Bacterien gesellen sollten.

Nach diesen Ausführungen werde ich mich in der Beschreibung der hierher gehörigen Photogramme kurz fassen können.

Tab. VI. No. 33. 700 ×. Schnitt von der Oberfläche der Geschwulst an einer von Epidermis bedeckten Stelle. Rechts die Epidermis, deren Zellen gequollen sind, darunter, nach links zu, das dichte Gewirr von kräftig entwickelten Milzbrandbacillen.

Tab. VI. No. 34. 700 ×. Aus dem Innern der Geschwulst. Gekrümmte, wenig gefärbte, im Absterben begriffene oder auch zum Theil schon abgestorbene Milzbrandbacillen.

Tab. VI. No. 35. 700 ×. Dicht gehäufte Colonien von ziemlich grossen Mikrokokken neben Milzbrandbacillen, welche theilweise noch wohlerhalten, theilweise gequollen, ungefärbt, also abgestorben sind.

Tab. VI. No. 36. 700 ×. Colonien von verschiedenen Mikrokokken. Darunter solche, welche kurze Ketten bilden, in denen je zwei Glieder enger mit einander verbunden sind. Nach unten blasse abgestorbene Milzbrandbacillen.

Tab. VII. No. 37. 700 ×. Mikrokokken in einzelnen kleinen dicht gedrängten Haufen und theilweise zerstreut. Letztere zeigen überall da, wo sie bei der photographischen Aufnahme scharf eingestellt waren, eine ganz regelmässige Anordnung entweder zu zweien, oder noch häufiger zu vieren, gruppirt. Wenn dieses Photogramm mit der Abbildung der

von Klebs beschriebenen Variola-Mikrokokken*), wie er sie im Trachealschleim einer Pockenleiche gefunden hat, verglichen wird, dann tritt eine so wesentliche Uebereinstimmung in Grösse und Anordnung der Mikrokokken hervor, dass man kaum an ihrer Identität zweifeln kann.

Tab. VII. No. 38. 700 X. Gruppen einer anderen grösseren, aber ebenfalls vorwiegend zu je vier Individuen verbundenen Mikrokokkenart.

Tab. VII. No. 39. 700 X. Die Milzbrandbacillen gehen an dieser Stelle bis dicht an die von Epidermis entblösste Oberfläche der Geschwulst. Darüber hinweg ist eine Schicht ausserordentlich zierlicher und feiner Bacillen gelagert, welche dadurch ausgezeichnet sind, dass in ziemlich regelmässigen Abständen dunkler gefärbte Punkte eingelagert sind. Am meisten nach aussen befinden sich einige Bacillen, in denen diese Punkte kaum angedeutet sind, daneben lassen sich alle Uebergänge bis zu solchen auffinden, in denen die Bacillensubstanz fast verschwunden, dagegen die dunklen Punkte sehr ausgesprochen hervortreten. Ob dies fortlaufende Stufen von Entwickelung und vielleicht Sporenbildung sind, vermag ich bislang nicht zu entscheiden. Sollte es sich um Sporen handeln, dann würden diese sich von den übrigen bekannten Bacillensporen sehr wesentlich unterscheiden, weil letztere bei der Kernfärbung keine Anilinfarbstoffe annehmen. Diese Bacillen entsprechen, soweit sich aus Beschreibung und Abbildung schliessen lässt, vollkommen den von Klebs und Tommasi-Crudeli**), sowie von Marchiafava und Cuboni***) geschilderten Malariabacillen. Weitere Untersuchung und Vergleichung, wozu sich namentlich photographische Abbildungen der Malariabacillen eignen würden, müssen über dieses eigenthümliche Zusammentreffen Aufklärung verschaffen.

Tab. VII. No. 40. 700 X. Bacterien aus Blut, welches einige Tage gefault war. Dieses Photogramm wurde als Beispiel für die Mannigfaltigkeit der Bacterienarten in Faulflüssigkeiten gewählt. Dicht nebeneinander und doch deutlich gruppenweise gesondert, zeigen sich auf demselben sehr feine blasse Bacillen, andere dunkler gefärbte und etwas grössere Bacillen, ferner Mikrokokken in allen möglichen Grössen, Unterschieden im Färbungsvermögen u. s. w. Zu diesem Photogramm ist zu vergleichen diese Veröffentlichung S. 120.

Tab. VII. No. 41 und 42. 700 X. No. 41 Bacillen im Blute einer an Septicämie gestorbenen Maus. No. 42 Schnitt aus dem Ohr einer mit Septicämie am Ohr geimpften Maus. Im unteren Theile des Photogrammes die grossen Knorpelzellen, an deren Rande sich ein Schwarm von kleinen Bacillen hinzieht. Vergl. diese Veröffentlichungen S. 169 sqq.

Tab. VIII. No. 43, 44 und 45. 700 X. Bacillen des malignen Oedems. No. 43 aus der Oedem-Flüssigkeit eines Meerschweinchens. No. 44 aus der Lunge einer Maus. No. 45 aus der Milz eines Meerschweinchens (etwas verlängerte Bacillen, wie sie bisweilen vorkommen, besonders wenn die Section nicht sofort nach dem Tode vorgenommen wird). Vergl. S. 54.

Tab. VIII. No. 46. 700 X. Schnitt vom Rande der Niere eines an malignem Oedem gestorbenen Meerschweinchens. Beim Vergleich dieses Photogrammes mit den Schnitten aus Milzbrand-Organen Tab. V. No. 26 und 27 fällt sofort die grosse Aehnlichkeit der beiden Bacillenarten ins Auge.

Tab. VIII. No. 47 und 48. 700 X. Schnitte aus der Hornhaut eines pockenkranken Schafes, und zwar vom Rande eines Hornhautgeschwüres. Die ulcerirte Stelle ist von einer massenhaften Kernanhäufung umgeben und zwischen den Kernen breitet sich ein dichter Filz von leicht gekrümmten, stellenweise wellig gebogenen Bacillen aus. An manchen Punkten schieben sich die Bacillenmassen vor den Kernen her in das noch intacte Hornhautgewebe hinein wie auf No. 47. Es ist deswegen auch wahrscheinlich, dass die Ulceration durch die

*) Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie, Bd. X Heft 3 u. 4 S. 226.
**) Archiv f. experim. Path. u. Pharm. Bd. XI.
***) Ebendas. Bd. XIII.

Einwanderung der Bacillen bedingt ist. Hin und wieder haben die Bacillen ein gekörntes Aussehen, No. 48, ähnlich denjenigen der Bacillen auf Tab. VII. No. 39.

Tab. IX. No. 49. 100 X. Bacterienherd aus der Niere von *Typhus abdominalis*.

Tab. IX. No. 50. 100 X. Ein ebensolcher aus der Leber von *Typhus abdominalis*.

Tab. IX. No. 51. 100 X. Ein ebensolcher aus der Milz von *Typhus abdominalis*.

Tab. IX. No. 52. 700 X. Schnitt aus der Leber von *Typhus abdominalis*. Rand eines Bacterienherdes, wo sich derselbe stellenweise auflöst und die einzelnen Bacterien sehr gut zu erkennen sind.

Tab. IX. No. 53. 700 X. Schnitt aus der Milz von *Typhus abdominalis*. Kleiner Bacterienherd, in dem die Bacterien ebenfalls einzeln zu unterscheiden sind.

Zu diesen fünf Photogrammen habe ich folgendes zu bemerken. Beim Abdominal-Typhus sind schon mehrfach Bacterien gefunden und zwar drei verschiedene Arten. Mikrokokken von mehreren Autoren beschrieben, kurze dicke Bacillen, über welche Eberth*) zuerst berichtet hat und lange dünne Bacillen, die kürzlich von Klebs**) beschrieben sind. Die Mikrokokken kommen, wie Eberth gefunden hat, nicht sehr oft vor, die kurzen Bacillen dagegen ungefähr in der Hälfte der untersuchten Fälle; und zwar werden diese beiden Bacterienarten immer im Innern der verschiedensten Organe gefunden. Die Klebs'schen Bacillen befinden sich fast nur im Bereich der nekrotischen Darmgeschwüre. Es fragt sich nun, kommt einem von diesen Organismen die Bezeichnung Typhusbacterien zu, d. h. ist er die Typhusursache, und wenn dies der Fall ist, welchem. Die beiden Bacillenarten sind fast regelmässige Begleiter des Typhus, die Mikrokokken treten seltener auf und haben sehr viel Aehnlichkeit mit den in anderen Krankheiten vorkommenden secundär in die Gewebe eingedrungenen Mikrokokken. Es wird also darüber wohl kein Zweifel bestehen, dass die Mikrokokken, von denen ich übrigens auf der folgenden Tafel ebenfalls eine photographische Abbildung gebe, auch im *Typhus abdominalis* ein gelegentliches Vorkommen von secundärer Bedeutung bilden. Es bleiben mithin nur die Klebs'schen und die Eberth'schen Bacillen. Klebs scheint beide für identisch und für verschiedene Entwickelungsformen desselben Bacillus zu halten. Dem möchte ich widersprechen. So weit meine Erfahrung reicht, haben die Bacillen in den Mesenterialdrüsen in der Milz, Niere, Leber u. s. w. nur immer die von Eberth beschriebene Gestalt und genau ebenso sehen sie in den tieferen, nicht nekrotischen Theilen der Darmschleimhaut unterhalb der Darmgeschwüre aus, wo ich sie in zahlreichen Präparaten in ausgedehnten Lagern vorgefunden habe. In den oberen nekrotischen Partien der Darmschleimhaut, welche die Kernfärbung nicht mehr annehmen, traten die dünnen langen Bacillen auf, wie sie Klebs abbildet. Einen Uebergang zwischen beiden Bacillensorten habe ich nicht beobachten können und muss sie wegen der Formverschiedenheit, wegen ihres verschiedenen Färbungsvermögens und wegen des verschiedenen Verhaltens zu den inneren Organen für zwei verschiedene Bacterienarten halten.

In dem mir zu Gebote stehenden Material, welches weit geringer ist als das von Eberth benutzte, gestaltete sich der Bacterienbefund genau in dem von ihm angegebenen Zahlenverhältniss. In der Hälfte der Fälle waren fast in allen Organen die Herde, welche aus den ganz charakteristischen kurzen Bacillen bestehen, vorhanden, in der anderen Hälfte fehlten sie und nur in einem Falle kamen Mikrokokken vor. Ohne damit irgendwie Eberth die Priorität streitig machen zu wollen, sondern nur, weil ich annehme, dass ein solcher Befund durch die von einander unabhängige mehrfache Constatirung an Werth gewinnt, will ich noch anführen, dass die hier veröffentlichten auf *Typhus abdominalis* bezüglichen Photogramme schon vor zwei Jahren, also zu einer Zeit als Eberth seine Beobachtungen noch nicht veröffentlicht hatte, angefertigt sind. Nach meinem Dafürhalten gewinnt die Annahme dass die Eberth'schen Bacillen mit dem *Typhus abdominalis* in einem ursächlichen Zusammen-

*) Virchow's Archiv. Bd. 81 und 83.

**) Archiv f. experiment. Path. u. Pharm. Bd. XIII.

hang stehen, dadurch sehr an Wahrscheinlichkeit, dass sie überall in den inneren Organen verbreitet gefunden werden, während die Klebs'schen Bacillen nur nekrotische Darmpartien in Beschlag nehmen. Sehr charakteristische Beispiele dafür, dass andere Bacterien sich mit Vorliebe auf einem von pathogenen Bacterien vorbereiteten Boden niederlassen, habe ich in den Photogrammen von Milzbrand des Menschen gegeben. Auch hatte ich Gelegenheit bei einem Falle von Darm-Milzbrand des Menschen in den nekrotischen Partien der Schleimhaut genau dieselben dünnen, langen Bacillen, wie sie beim Typhus vorkommen, in grosser Zahl zu finden und ich kann aus diesen Gründen die Klebs'schen Typhusbacillen vorläufig nur als eine secundäre Erscheinung ansehen. Eine bestimmte Entscheidung über die Bedeutung dieser verschiedenen Bacillen für den Typhus lässt sich nach den bis jetzt vorliegenden Thatsachen indessen noch nicht gewinnen.

Eberth hat noch behauptet, dass die kurzen Bacillen wenig Neigung hätten, Farbstoffe aufzunehmen. Die vorliegenden Photogramme beweisen wohl dagegen, dass auch diese Bacillen im Färbungsvermögen wenig hinter anderen Bacterien zurückstehen.

Tab. IX. No. 54. 100 X. *Aspergillus glaucus.* Aus der mit Mycelien durchsetzten Niere eines nach Injection von Sporen dieses Pilzes gestorbenen Kaninchens auf Nährgelatine gezüchtet. (Vergl. diese Veröffentl. S. 131.)

Tab. X. No. 55. 100 X. Schnitt aus der Niere von *Typhus abdominalis.* Mit Mikrokokken gefüllte Gefässe. Stellenweise dringen die Mikrokokken ähnlich wie bei *Endocarditis ulcerosa* aus einem gesprengten Glomerulus in die benachbarten Harnkanälchen.

Tab. X. No. 56. 700 X. Querschnitt eines solchen Harnkanälchens aus der Typhus-Niere einen Mikrokokkenhaufen einschliessend.

Tab. X. No. 57, 58, 59 und 60. 700 X. No. 57, Schnitt aus der Lunge und No. 58, 59, 60 Schnitte aus der Niere von einer tödtlich verlaufenen Pneumonie, welche sich an einen überstandenen Recurrens angeschlossen hatte. Die Verbreitung der in diesem Falle gefundenen Bacterien erinnert an diejenige beim Erysipel. Nur in den am Rande der verdichteten Lungenpartien gelegenen Alveolen waren die Bacterien zu finden. Am deutlichsten waren sie in solchen Alveolen, wie das Photogramm No. 57 zeigt, in denen das Exsudat den Raum nur theilweise ausfüllte. In den benachbarten vollständig luftleeren Alveolen waren auch noch die Bacterien zu sehen, aber weniger gut gefärbt und anscheinend im Absterben begriffen. Sie umgaben also, ebenso wie die Erysipelas-Mikrokokken, den Krankheitsherd in einem schmalen Saum, demselben theilweise vorausgehend. An manchen Stellen liess sich ihr Uebergang in einzelne Lungencapillaren verfolgen und sie fanden sich dementsprechend auch in der Niere (andere Organe standen mir von diesem Falle nicht zu Gebote) in einigen Capillaren. Solche Nierencapillaren, in denen die Form dieser eigenthümlichen, stellenweise kurze Ketten bildenden Bacterien besonders hervortritt, sind in den Photogrammen No. 58, 59, 60 gegeben. Ohne Kernfärbungsmethode und Anwendung des Abbe'schen Beleuchtungsapparates wären diese Bacterien in den Lungenalveolen unmöglich zu erkennen. Sollte sich nicht noch manche Pneumonie, wenn die Randzone ganz besonders aufmerksam und mit Hülfe der auch in diesem Falle so bewährten Untersuchungsmethode durchforscht würde, als eine durch Bacterieninvasion bedingte Krankheit herausstellen?

Tab. XI. No. 61. 100 X. Schnitt aus einer pyelonephritischen Niere. In der Mitte, querverlaufend ein mit dunklem Inhalt gefülltes Harnkanälchen. Andere mehr oder weniger schräg durchschnittene ebenfalls mit Bacterien gefüllte Kanälchen daneben und darunter.

Tab. XI. No. 62. 700 X. Schnitt aus derselben Niere. Ein schräg durchschnittenes, bacterienhaltiges Harnkanälchen; das noch gut erhaltene Epithel umschliesst die locker zusammengehäuften, etwas länglichen Bacterien, welche einige Aehnlichkeit mit den Eberth'schen Typhusbacillen haben.

Tab. XI. No. 63. 700 X. Schnitt aus derselben Niere. Die Grösse und Gestalt der Bacterien tritt an dieser Stelle, an welcher sie durch den Schnitt anscheinend von ihrer Colonie losgerissen und zur Seite gestreut sind, besonders gut hervor.

Tab. XI. No. 64 und 65. 100 ×. Schnitte aus einer Niere von einem nach Blasendiphtheritis (Wirbelfractur, häufiges Katheterisiren) tödtlich verlaufenen Fall. In der Niere waren bei der Section schon makroskopisch kaum mohnkorngrosse graubraune Knötchen in Mark- und Rindensubstanz ziemlich gleichmässig verstreut zu erkennen. Vermuthlich sind dies dieselben bräunlich gefärbten Bacterienherde, welche zuerst von v. Recklinghausen beschrieben sind. No. 64 zeigt einen solchen Herd aus der Marksubstanz, No. 65 einen aus der Rindensubstanz der Niere bei 100 × Vergrösserung. Auf letzterem Bilde ist sofort zu erkennen, dass die Bacterienmassen im Gefässsystem und nicht in den Harnkanälchen liegen. Die Form der diese Herde constituirenden Bacterien zeigt sich am besten in einem Präparat, welches in der Weise angefertigt wurde, dass gleich bei der Section ein Knötchen vorsichtig aus dem Nierengewebe herauspräparirt und mit einer Nadel auf einem Deckglas ausgestrichen wurde.

Tab. XI. No. 66. 700 ×, ist ein von dem soeben beschriebenen Präparat angefertigtes Photogramm. Ihrer Form nach, welche mehr länglich als rund ist, würde sie zur Gattung Bacterium und nicht zu Micrococcus zu rechnen sein.

Tab. XII. No. 67. 20 ×. Sporenhaltige Gartenerde durch Anwendung von Hitze desinficirt; auf Nährgelatine ausgesät blieb dieselbe unverändert.

Tab. XII. No. 68. 20 ×. Dieselbe sporenhaltige Erde, nicht desinficirt, als Controlpräparat für das vorhergehende dienend, auf Nährgelatine ausgestreut und innerhalb 30 Stunden eine reichliche Entwicklung verschiedener Bacillenarten zeigend. Die einzelnen Bacterien sind selbstverständlich bei der zur photographischen Aufnahme benutzten schwachen Vergrösserung nicht zu unterscheiden. Nur die dichteren Massen, welche fast jedes Erdpartikelchen umschliessen, geben sich als wolkenförmige Massen zu erkennen.

Tab. XII. No. 69. 20 ×. Colonien von Bacillen der Mäusesepticämie in Nährgelatine geimpft. Namentlich im oberen Theil des Impfstriches erscheint die eigenthümliche, verzweigte Form der kleinen Colonien. (Vergl. d. Veröffentl. S. 169.)

Tab. XII. No. 70. 20 ×. Colonien von Bacterien der Kaninchensepticämie in Nährgelatine geimpft. Die strichförmig von rechts nach links sich hinziehenden kugelförmigen Tropfen sind die auf einem Impfstrich zur Entwicklung gekommenen Colonien. (Vergl. d. Veröffentl. S. 98.)

Die Photogramme No. 31, 69 und 70 geben recht anschauliche Beispiele über die schon bei schwacher Vergrösserung sich unverkennbar kundgebenden Unterschiede in der Form der Colonien verschiedener Bacterien in Nährgelatine.

Tab. XII. No. 71 und 72. 700 ×. Blut von einem Sperling, der mit Kaninchensepticämie geimpft war. Die charakteristische Form dieser Bacterien (kurze, an den Enden schwach zugespitzte und dunkel gefärbte Stäbchen, in deren Mitte eine Stelle ungefärbt bleibt) tritt besonders auf No. 5 am obern Rande des Bacterienschwarms hervor. An einigen Stellen, so in der Mitte von No. 6, sind zwei und selbst mehrere Bacterien nach der Theilung in Zusammenhang geblieben und bilden scheinbar längere Stäbchen, die sich aber bei genauerer Betrachtung in die einzelnen Bacterien auflösen lassen. Die grossen dunklen ovalen Körper zwischen den Bacterien sind die Kerne der rothen Blutkörperchen. (Vergl. d Veröffentl. S. 94.)

Tab. XIII. No. 73. 700 ×. Bacillen aus dem Pericardialserum einer Leiche, welche im Sommer drei Tage gelegen hatte, ehe sie secirt wurde.

Tab. XIII. No. 74. 700 ×. Breite Bacillen von eigenthümlich körniger Beschaffenheit, die sich spontan in Froschblut entwickelt hatten. Daneben finden sich in ziemlich reichlicher Zahl sehr kleine dünne Bacillen.

Tab. XIII. No. 75. 700 ×. Bacillen, die sich aus Staub, der auf Nährgelatine ausgestreut war, entwickelt hatten. Dieselben sind beweglich und bilden an der Oberfläche von Nährflüssigkeiten eine dichte weisse Decke, würden also dem, was man gewöhnlich als Heubacillen bezeichnet, entsprechen.

Tab. XIII. No. 76. 700 ×. Sporenbildung der in No. 3 abgebildeten Bacillen.

Die Photogramme der zuletzt beschriebenen verschiedenen Bacillenarten, deren Zahl sich leicht vervielfältigen liesse, mögen im Verein mit den anderen früher besprochenen Photogrammen der pathogenen Bacillen eine Vorstellung von der Mannigfaltigkeit der Bacillenform geben.

Tab. XIII. No. 77. 700 X. Bacterienhaltiges Exsudat aus der Bauchhöhle eines Kaninchens, dem eine intraperitoneale Injection mit den Bacterien des blau-grünen Eiters gemacht war.

Tab. XIII. No. 78. 700 X. Eine, wie es scheint, ziemlich seltene Art von Vibrio oder Spirillum. Die einzige Notiz, welche ich über dieses seltsame Wesen auffinden konnte, enthält ein Werk von M. Perty, „Zur Kenntniss kleinster Lebensformen, 1852". Es wird daselbst als *Spirillum leucomelaenum* bezeichnet und gesagt, dass bei richtiger Fokalstellung intensiv schwarze mit glashellen Räumen abwechselnd in dem Spirillum erscheinen. Diese Angabe und die auf Tab. XV. Fig. 31 enthaltene Abbildung lassen keinen Zweifel darüber, dass Perty's *Spirillum leucomelaenum* und das von mir gesehene identisch sind. Ich habe dasselbe nur einmal in Wasser gefunden, welches über faulenden Algen stand. Der Sammlung von Bacterien-Photographien habe ich dieses Photogramm nicht wegen der Seltenheit des Objectes beigefügt, sondern wegen der überraschenden Aehnlichkeit, welche dieses Spirillum mit der schematischen Abbildung Naegeli's in seinem Werk über die niederen Pilze Seite 4 hat. Naegeli nimmt bekanntlich an, dass alle Bacterien, auch die schraubenförmigen, aus kurzen, im Allgemeinen gleichwerthigen Gliedern bestehen. In wie weit diese Annahme begründet ist, will ich hier nicht weiter untersuchen. Das *Spirillum leucomelaenum* sollte nur als ein Beispiel dafür dienen, dass nicht immer eine dem ersten Anblick als evident erscheinende Gliederung auch in Wirklichkeit einer solchen entspricht. Rechts von dem grossen *Spirillum leucomelaenum* befindet sich auf dem Photogramm ein zweites kleineres Exemplar, welches mit unregelmässig vertheilten kleineren und grösseren dunklen Punkten versehen ist. Von solchen mit einer eben wahrnehmbaren Punktirung bis zu den regelmässig schwarz und weiss gestreiften Spirillen finden sich alle Uebergänge, und es lässt sich leicht verfolgen, dass nicht eine fortwährende Theilung der einzelnen scheinbaren Glieder des *Spirillum leucomelaenum* stattfindet, sondern dass sich eine im Innern desselben auftretende dunkelgefärbte körnige Substanz immer mehr an einzelnen Punkten anhäuft und schliesslich in regelmässigen Abständen quer verlaufende Bänder bildet.

Tab. XIV. No. 79 und 80. 700 X. Blut vom Hamster mit monadenartigen Parasiten. Vergl. diese Veröffentl. S. 8.

Tab. XIV. No. 81. 100 X. Schnitt vom Rand der Nierenpapille einer pyelonephritischen Niere. Schon makroskopisch liess sich an der Oberfläche einiger Papillen dieser Nieren ein weissgelblicher Ueberzug bemerken, der sich bei 100facher Vergrösserung als eine fadenartige Masse erweist, die sich an der Papillenoberfläche ausbreitet und ziemlich tief in das Gewebe derselben eindringt.

Tab. XIV. No. 82. 700 X. In demselben Schnitt zeigt sich bei starker Vergrösserung die fadenartige Masse als ein kräftig wucherndes Pilzmycel.

Tab. XIV. No. 83. 20 X. Schnitt aus einer durch *Plasmodiophora brassicae* veränderten Kohlwurzel. Nach einem Präparat von Dr. Eidam. Die dunklen zwischen den Gefässbündeln auftretenden und nach der Rinde zu sich erstreckenden Massen sind die mit Sporen der Plasmodiophora gefüllten Zellen.

Tab. XIV. No. 84. 700 X. Eine der im vorhergehenden Bilde enthaltenen Zellen bei starker Vergrösserung, bei welcher die einzelnen Sporen der Plasmodiophora zu unterscheiden sind. Vergl. diese Veröffentl. S. 9.

Berlin, den 10. Mai 1881.

Tab. I.

1

2.

3.

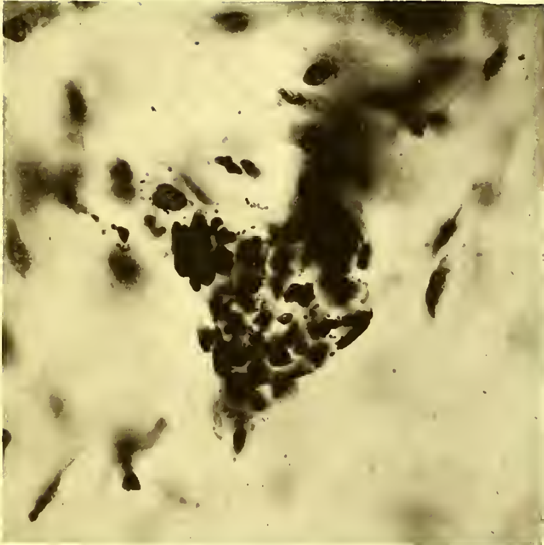
4

6.

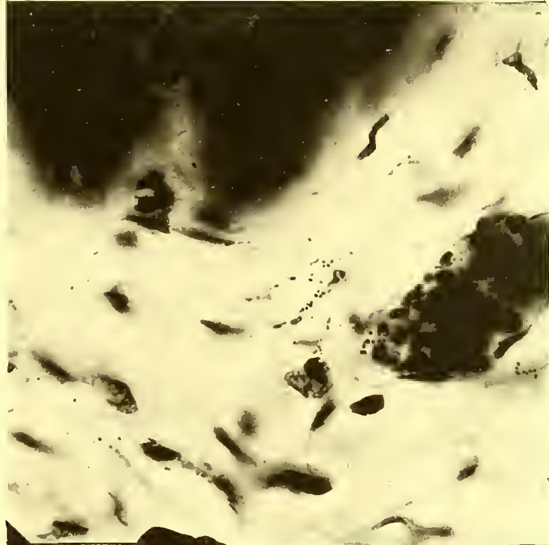
Lichtdruck v. Römmler & Jonas, Dresden.



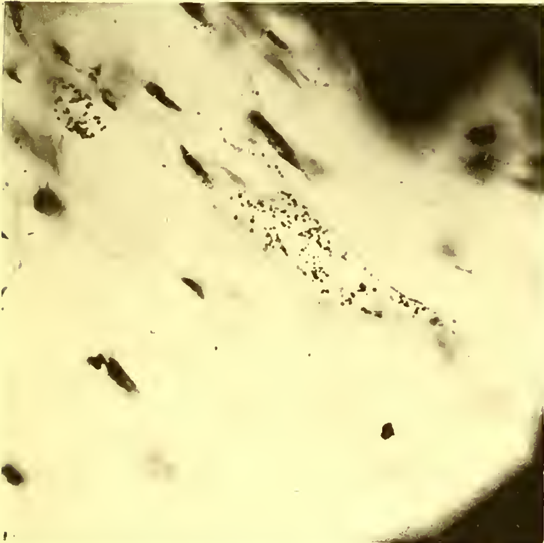
7.



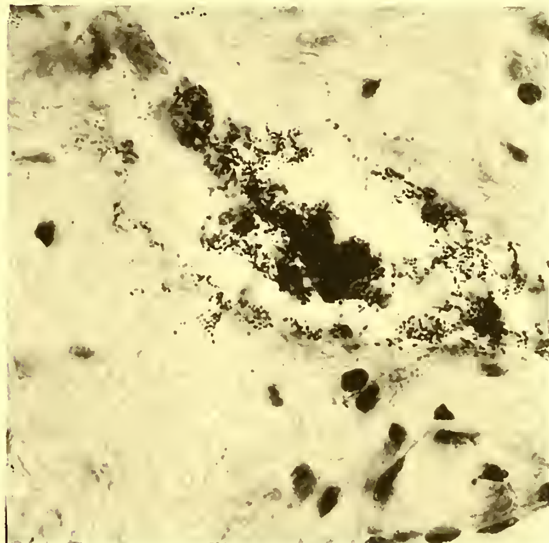
8.



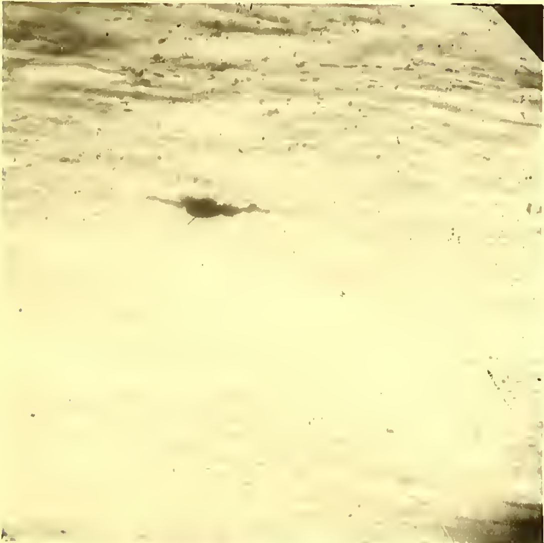
9.



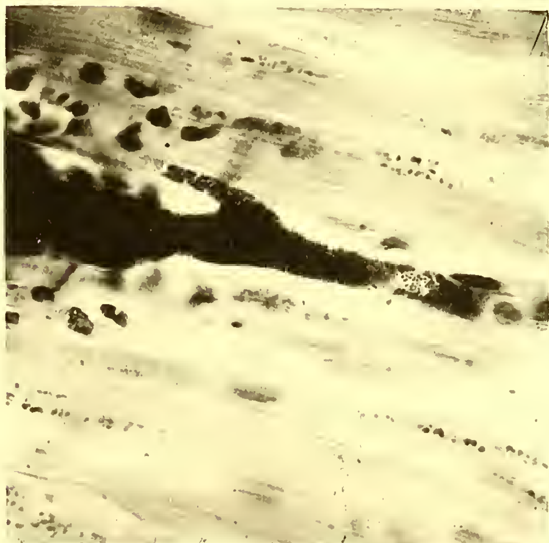
10.



11.

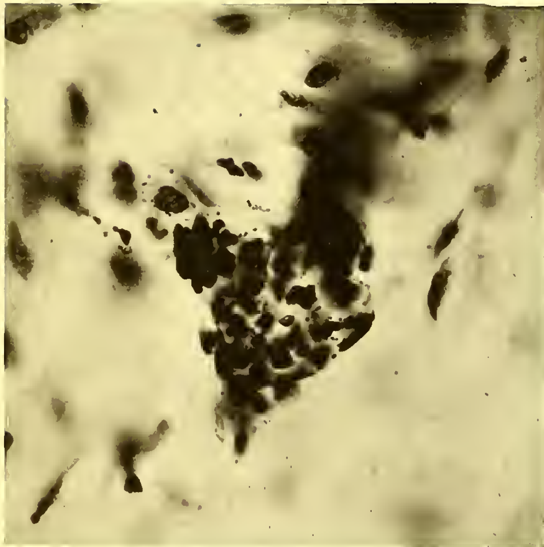


12.

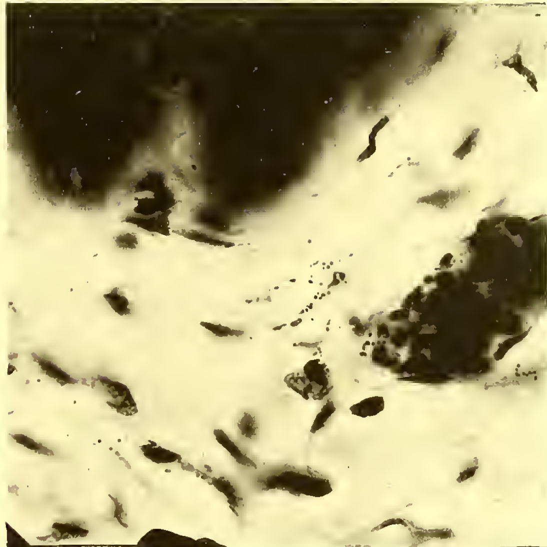


Lichtdruck v. Römmler & Jonas, Dresden.

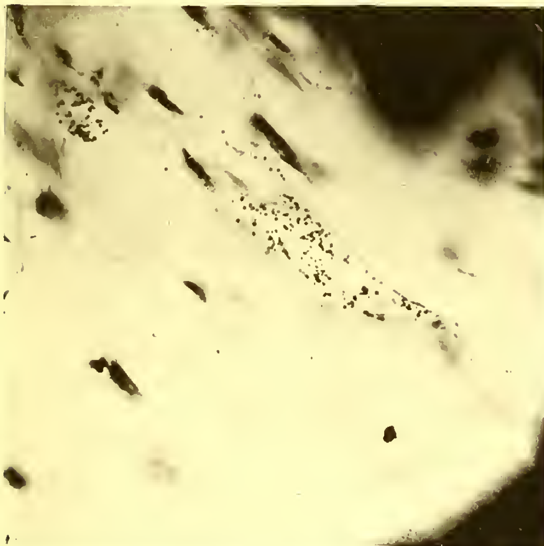
7.



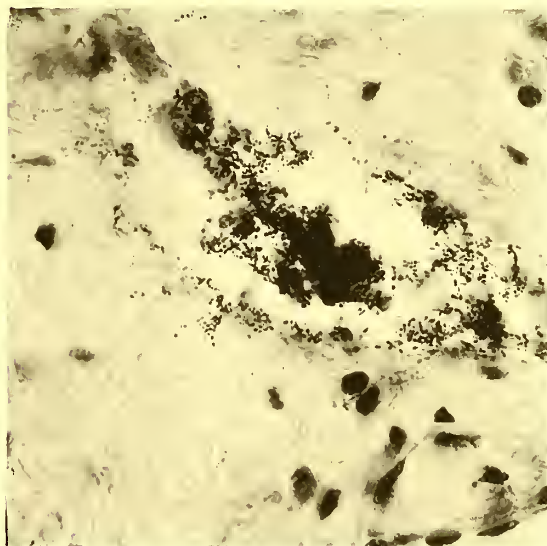
8.



9.



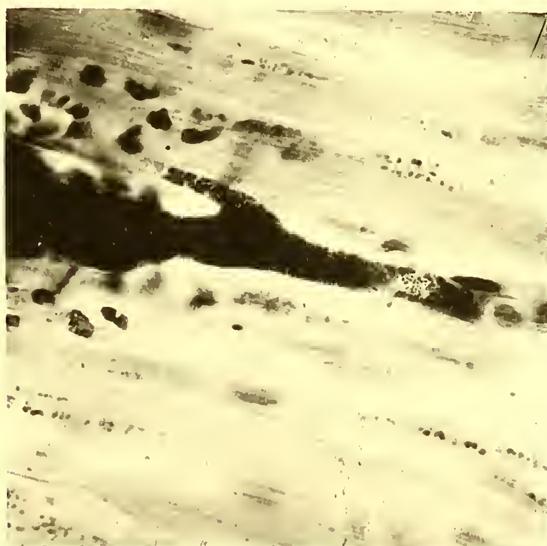
10.



11.



12.

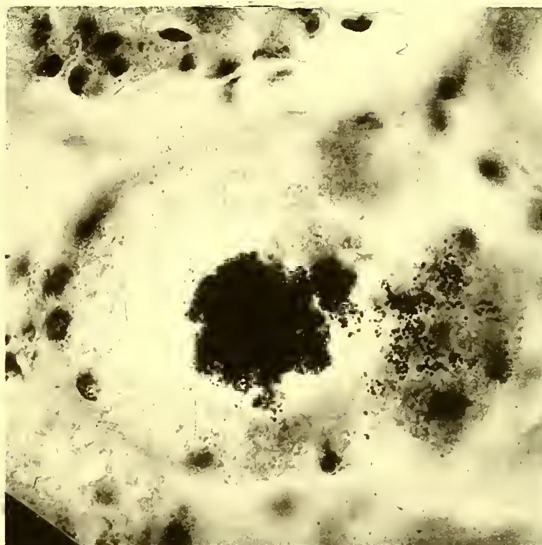


Lichtdruck v. Römmler & Jonas, Dresden.

13.



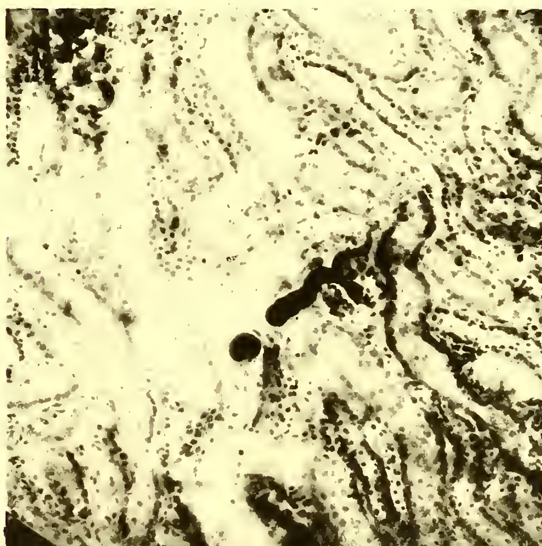
14.



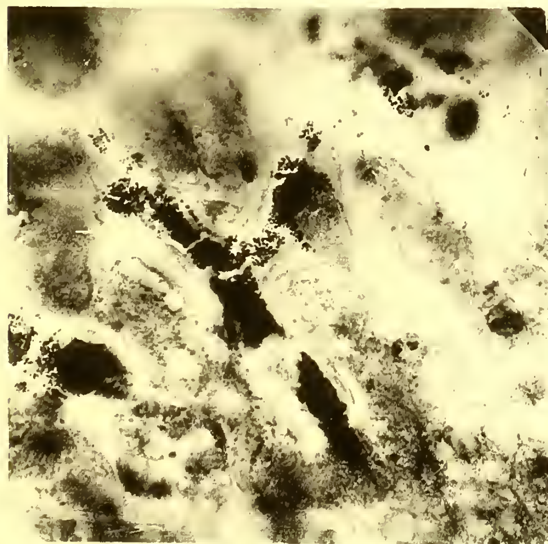
15.



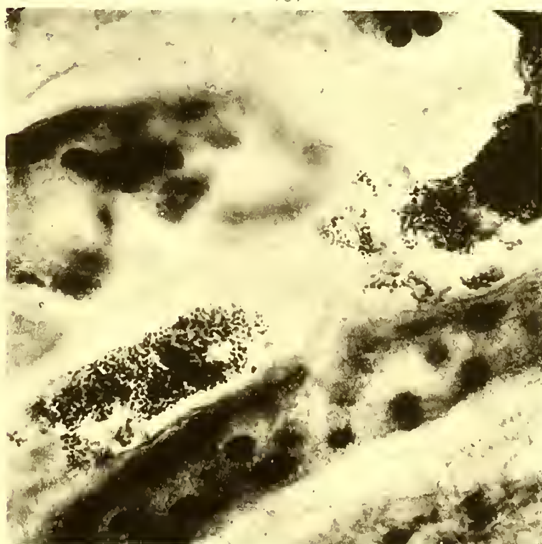
16.



17.

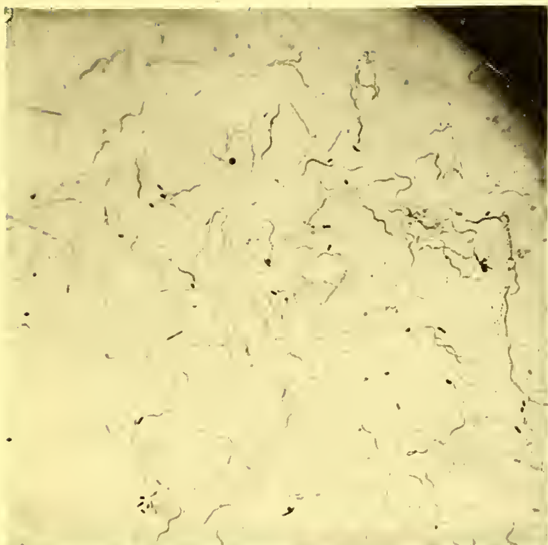


18.

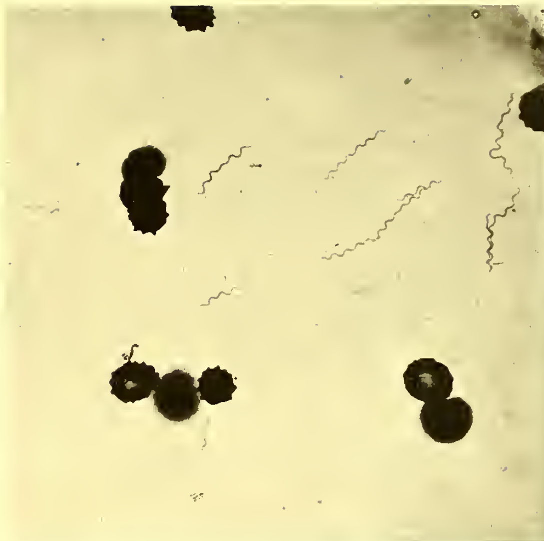


Lichtdruck v. Römmler & Jonas, Dresden.

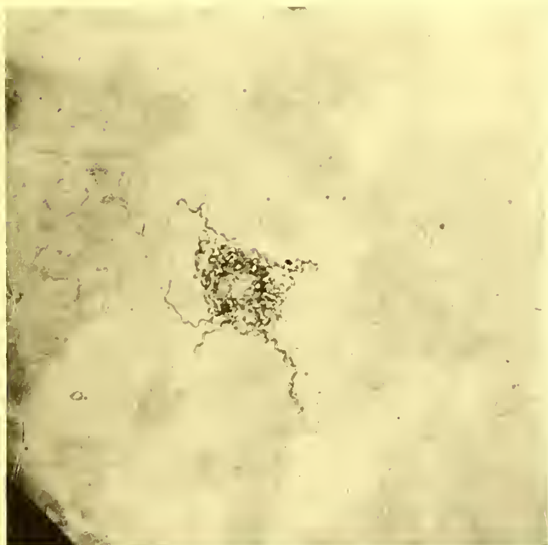
19.



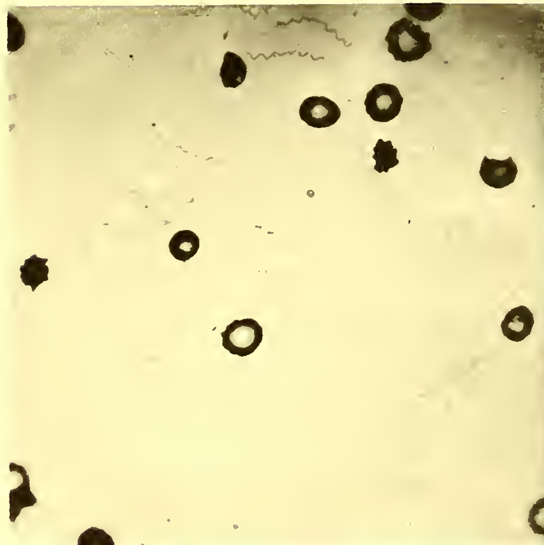
20.

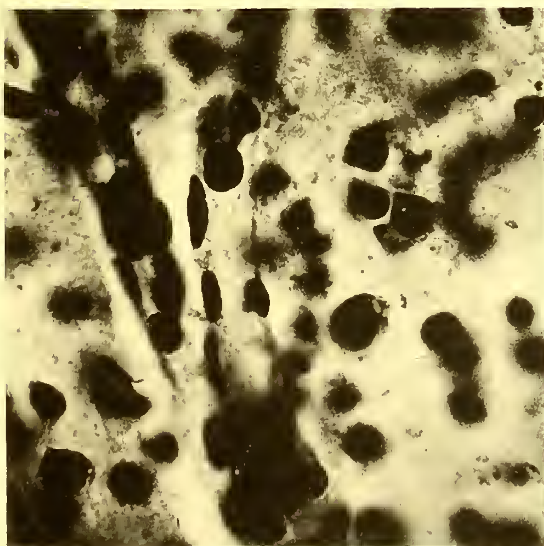


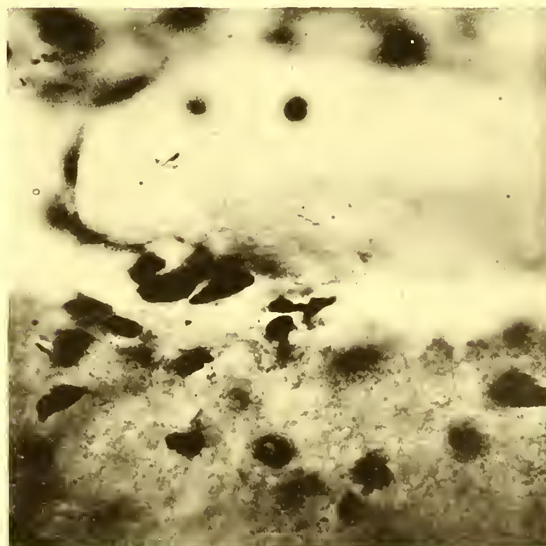
21.



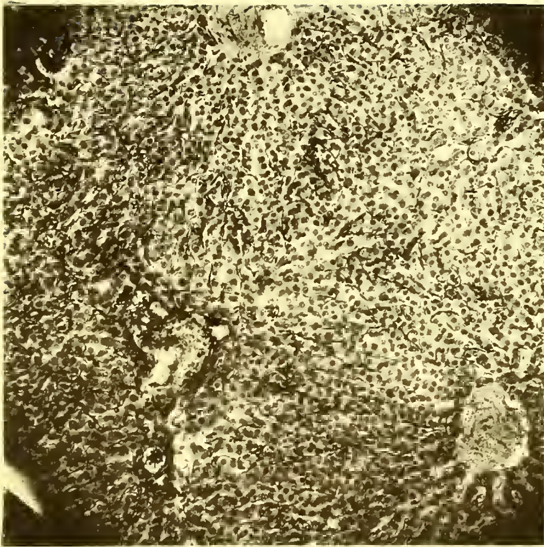
22.



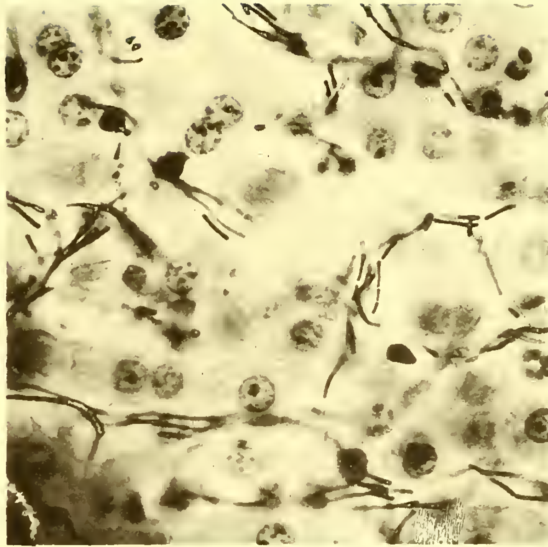




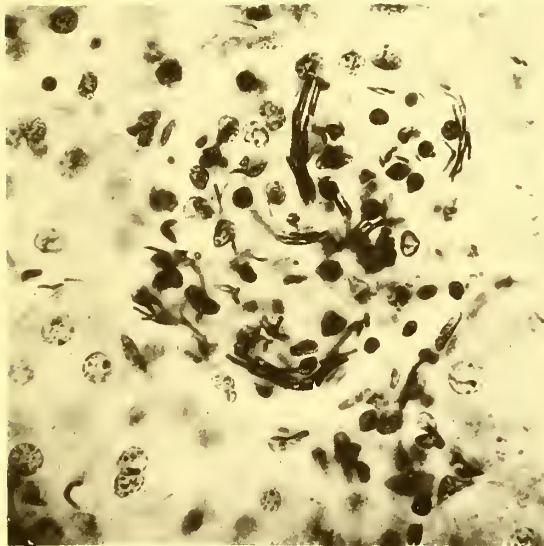
25.



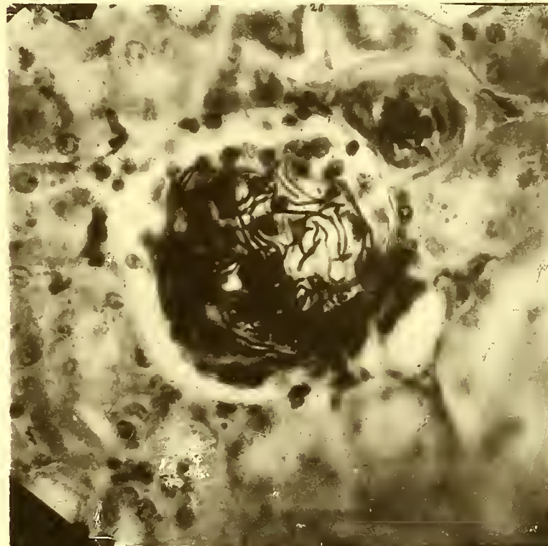
26.



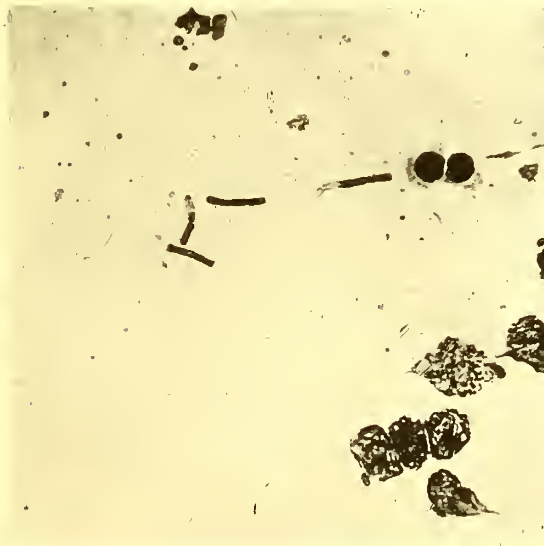
27.



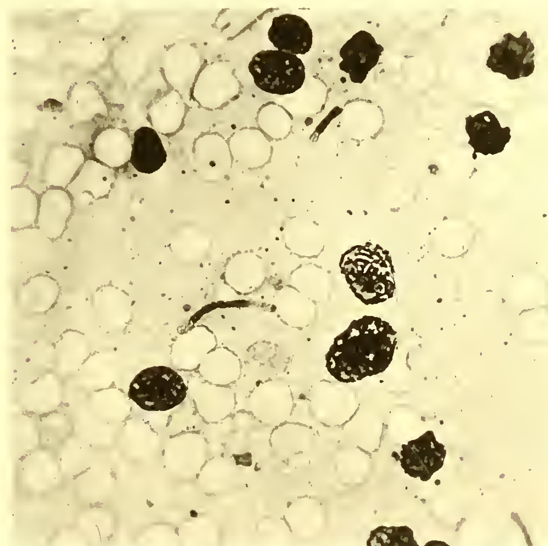
28.



29.

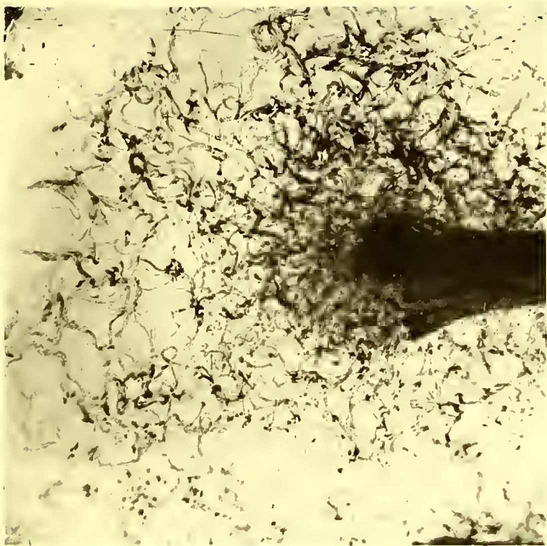


30.



Lichtdruck v. Römmler & Jonas, Dresden.

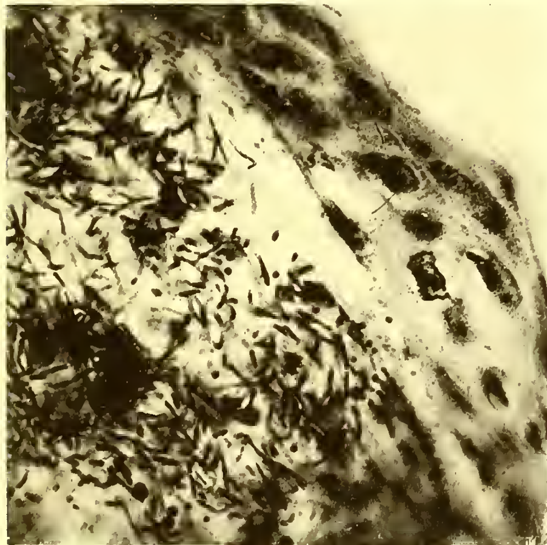
31.



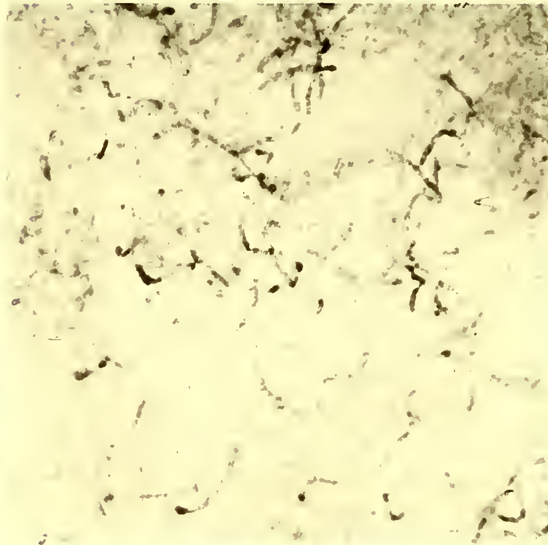
32.



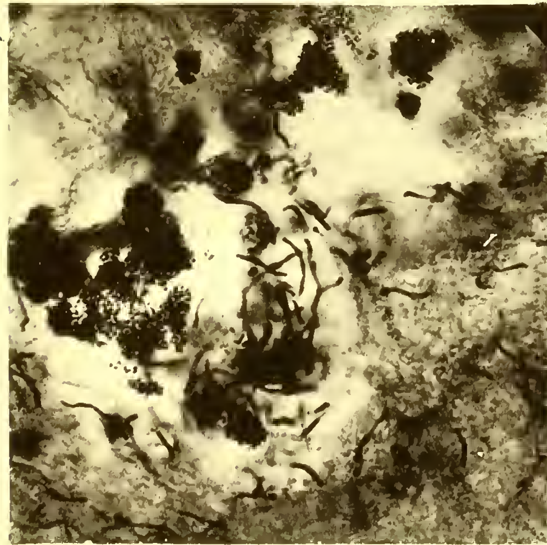
33.



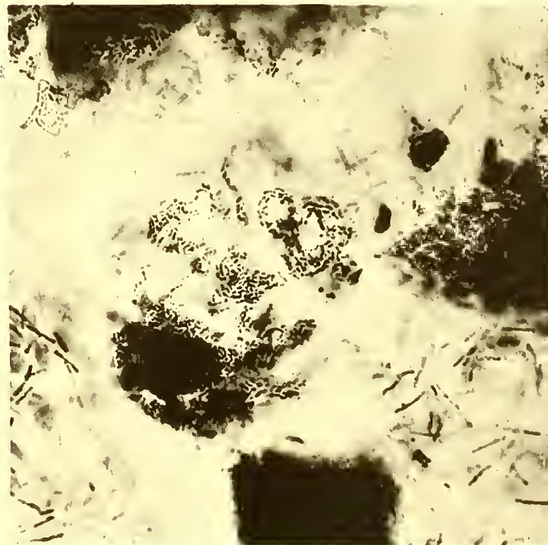
34.



35.

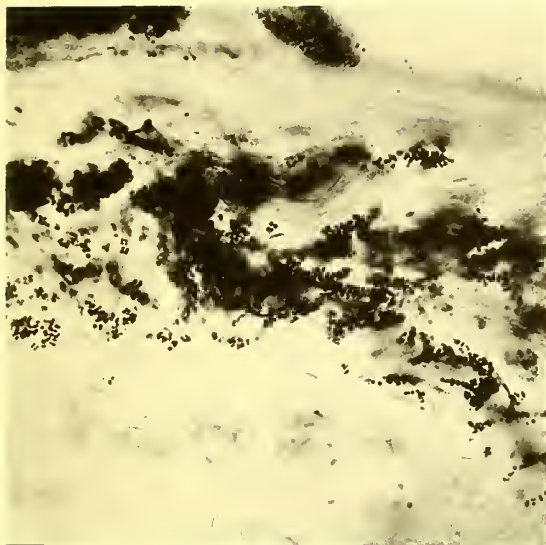


36.

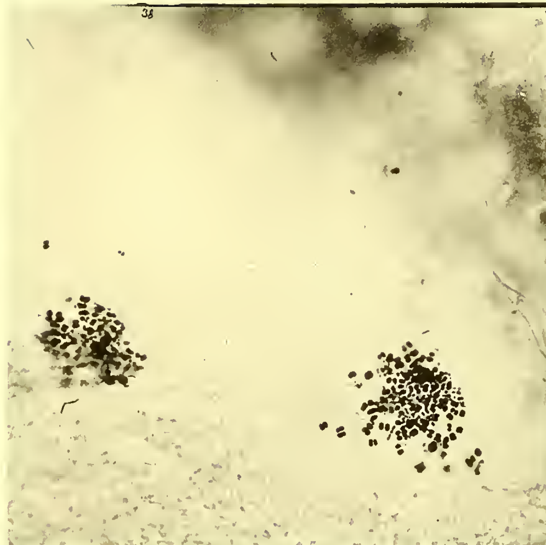


Lichtdruck v. Römmler & Jonas, Dresden.

37.



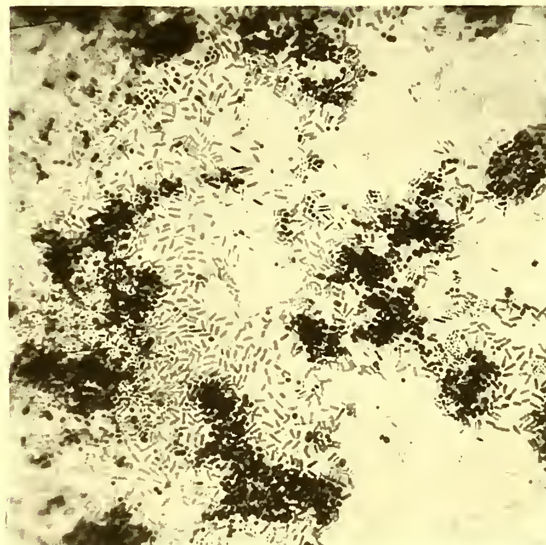
38.



39.



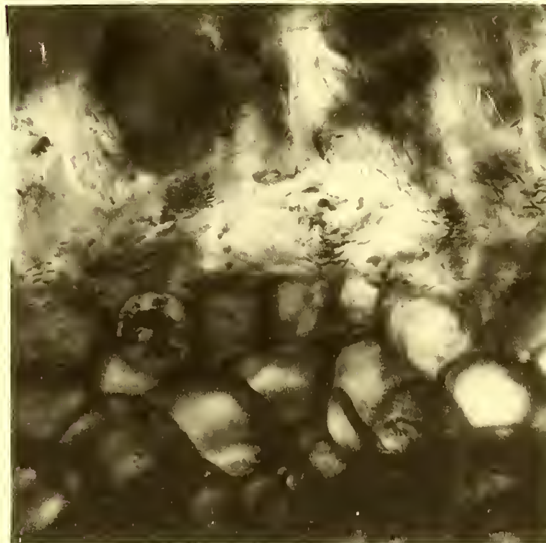
40.



41.



42.

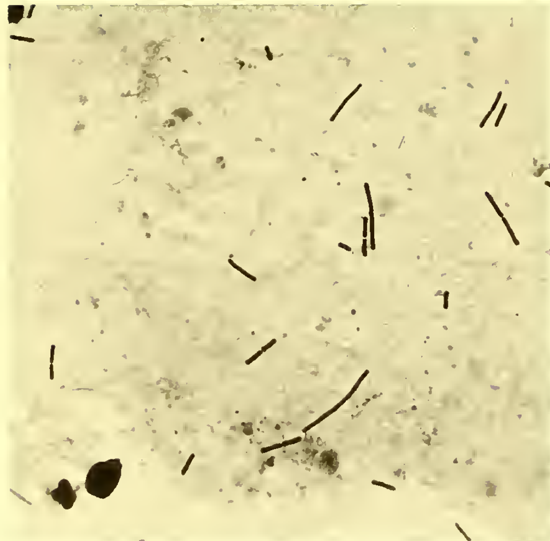


Lichtdruck v. Römmler & Jonas, Dresden.

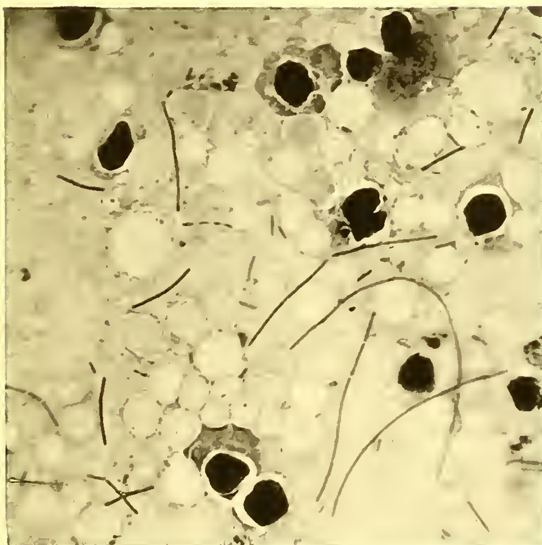
43.



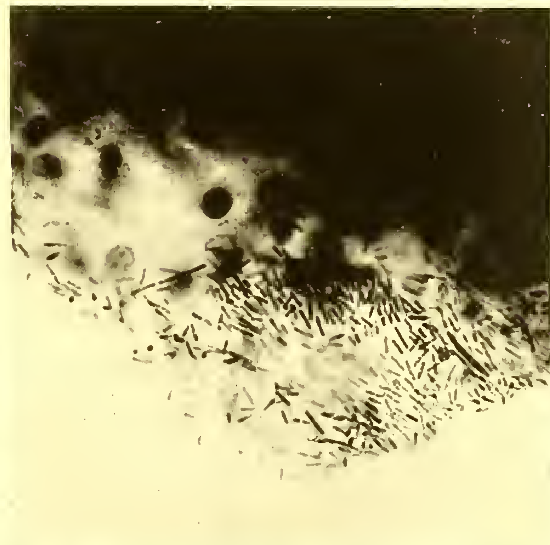
44.



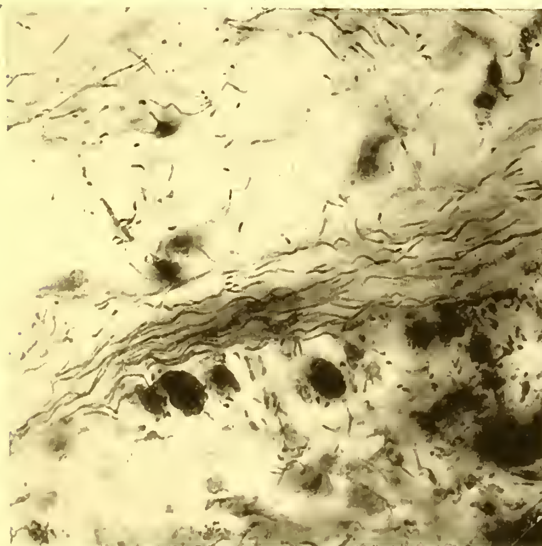
45.



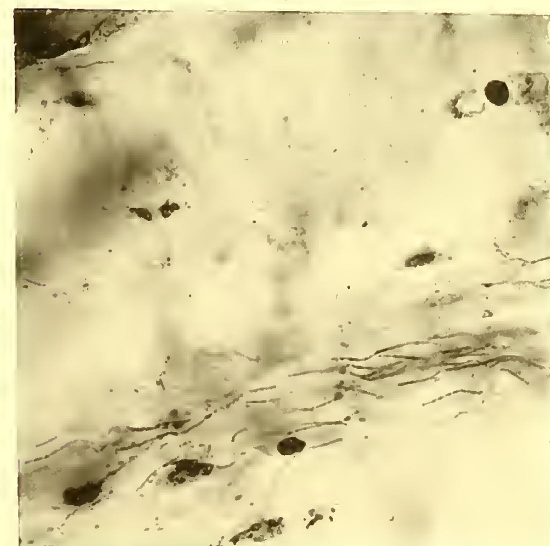
46.



47.

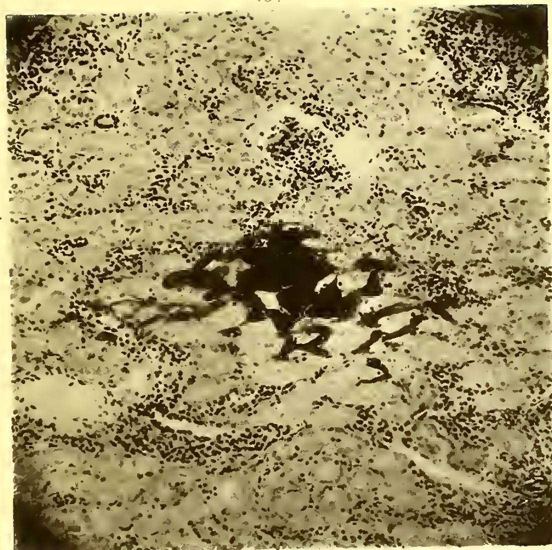


48.

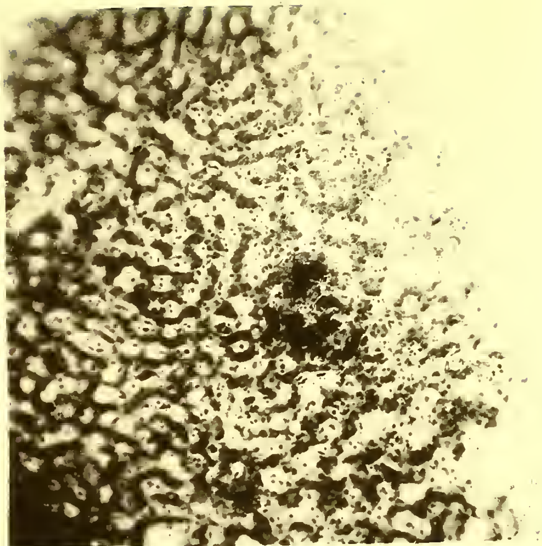


Lichtdruck v. Römmler & Jonas, Dresden.

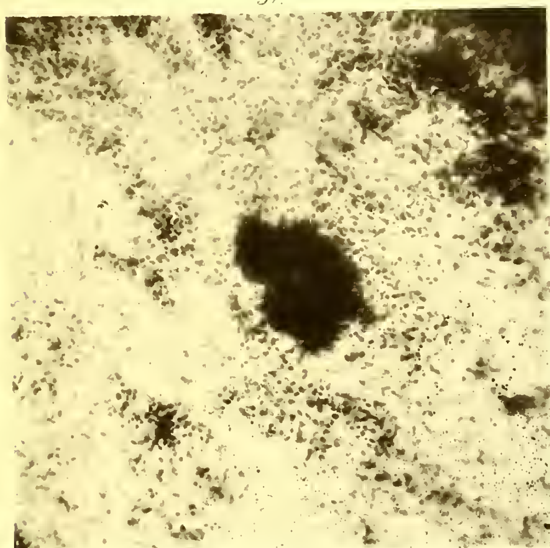
49.



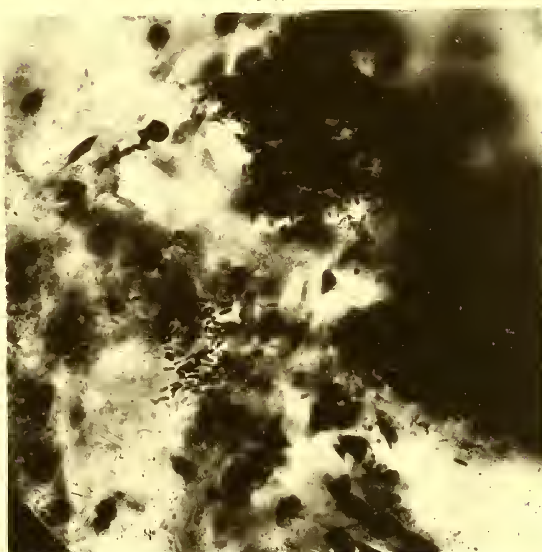
50.



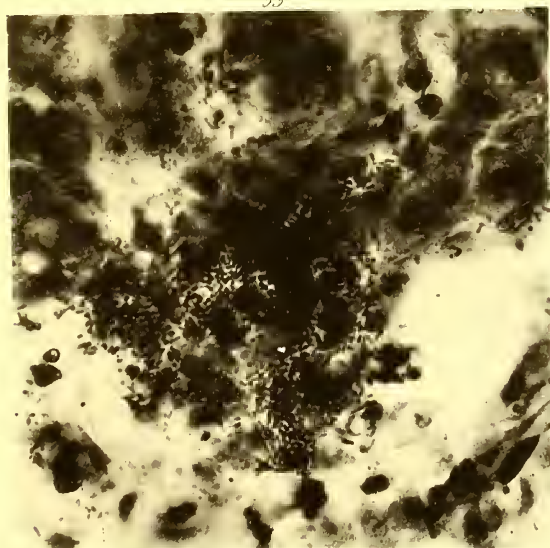
51.



52.



53.

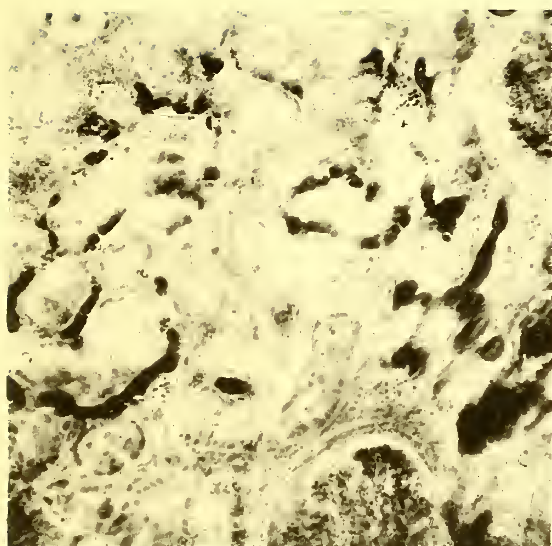


54.

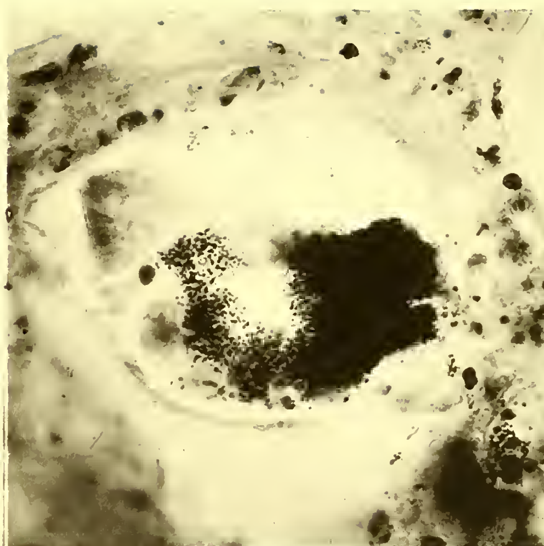


Lichtdruck v. Römmler & Jonas, Dresden.

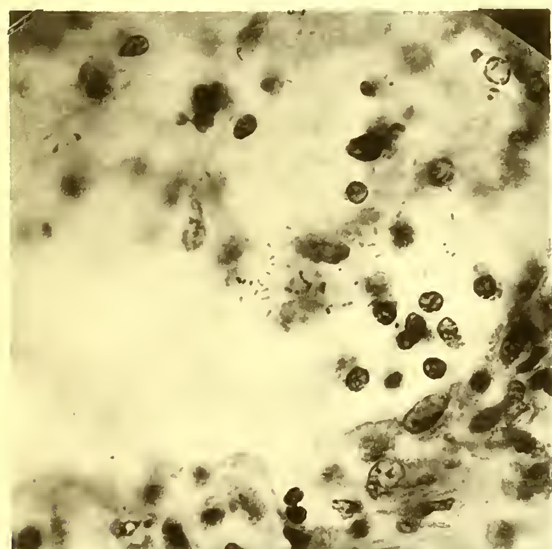
55.



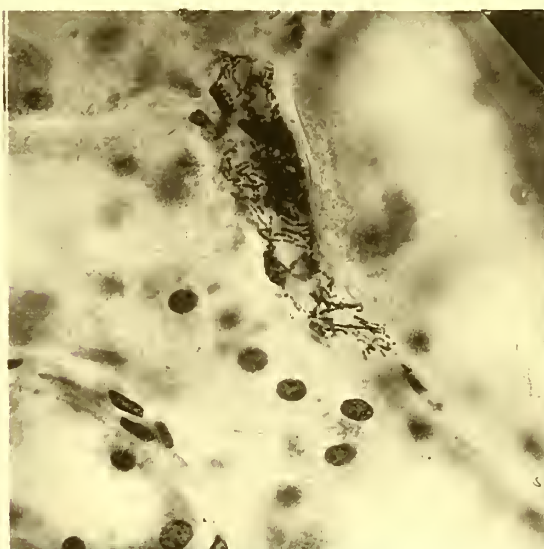
56.



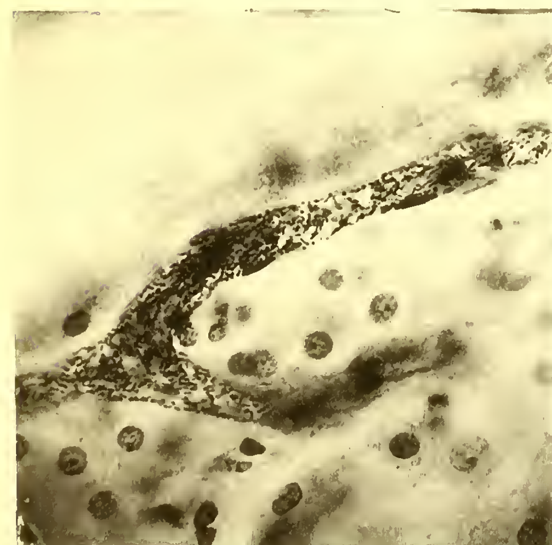
57.



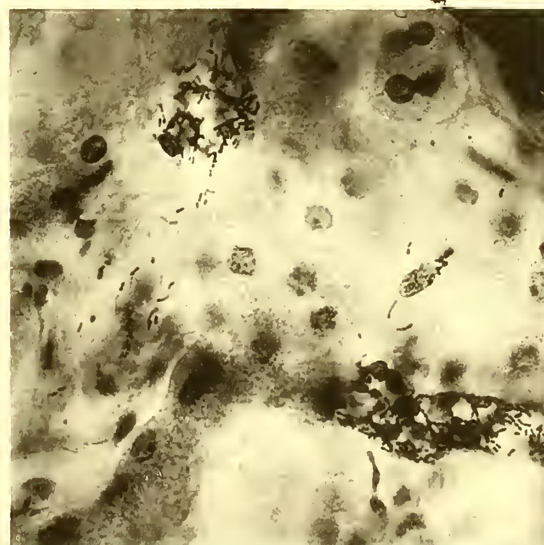
58.



59.

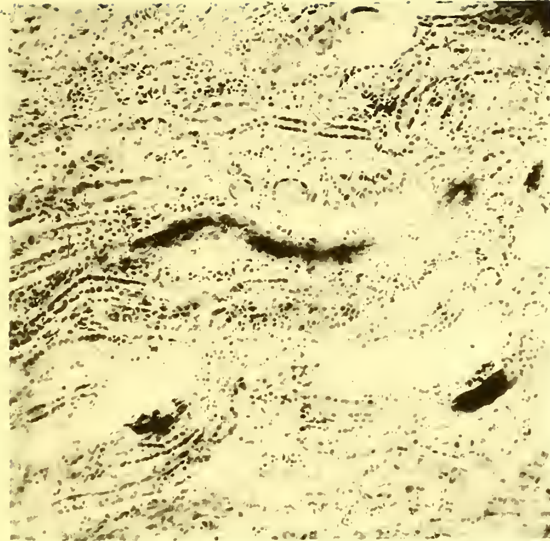


60.

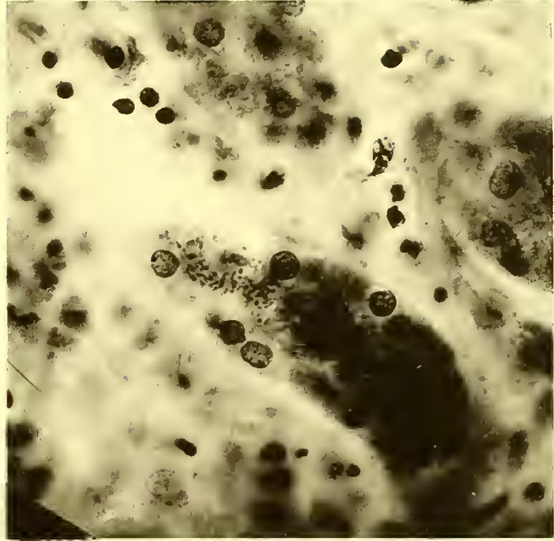


Lichtdruck v. Römmler & Jonas, Dresden.

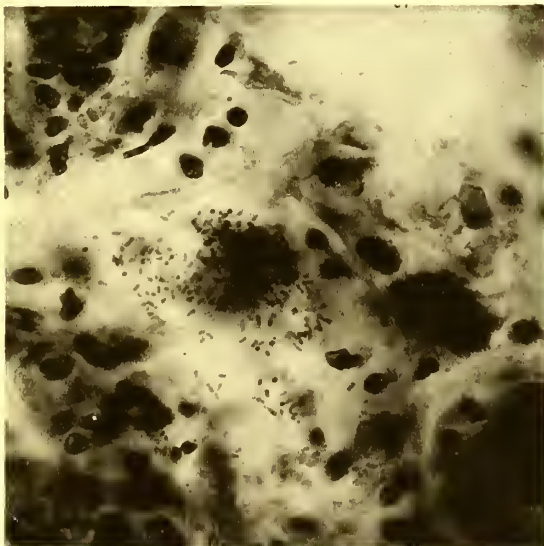
61.



62.



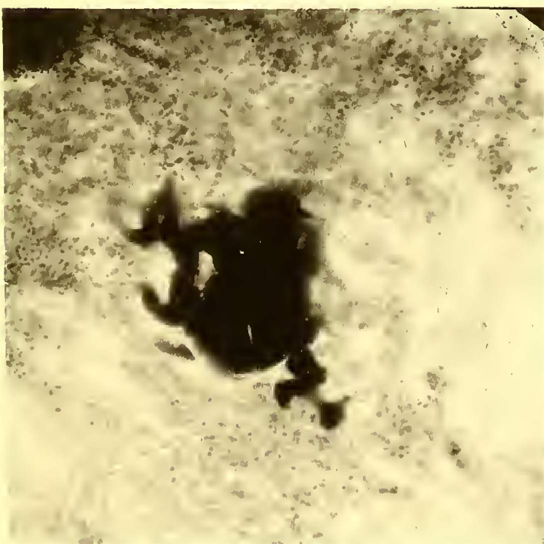
63.



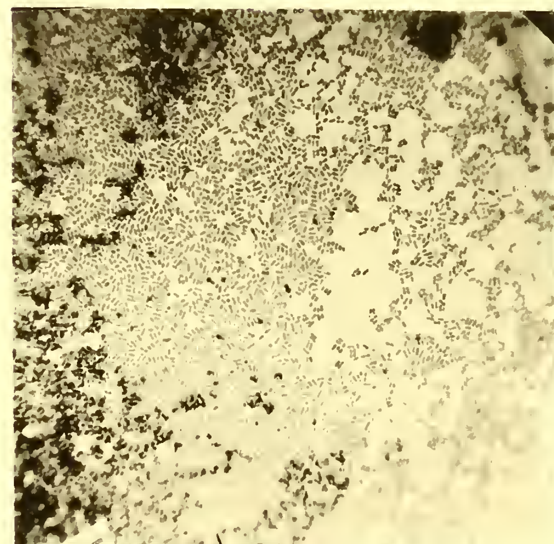
64.



65.

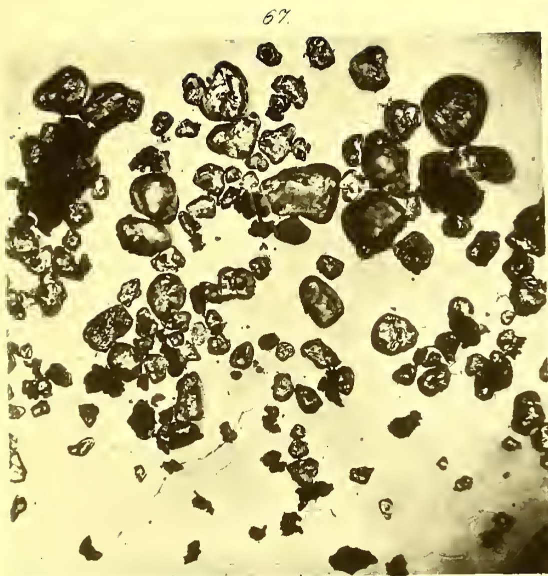


66.

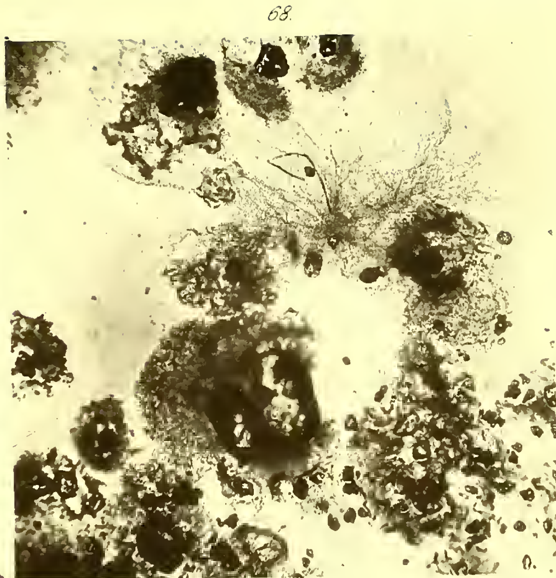


Lichtdruck v. Römmler & Jonas, Dresden.

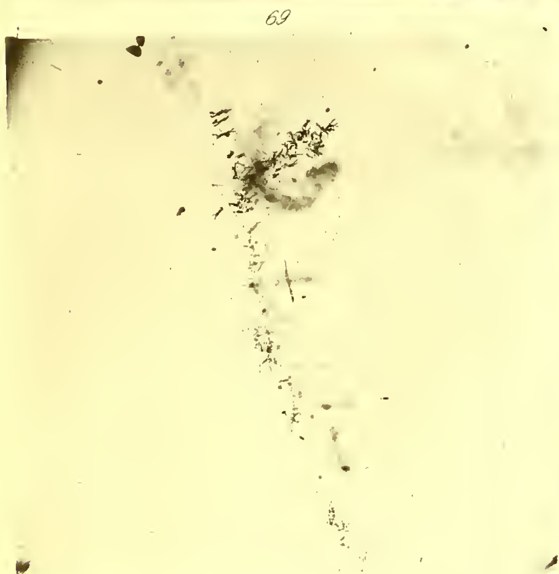
67.



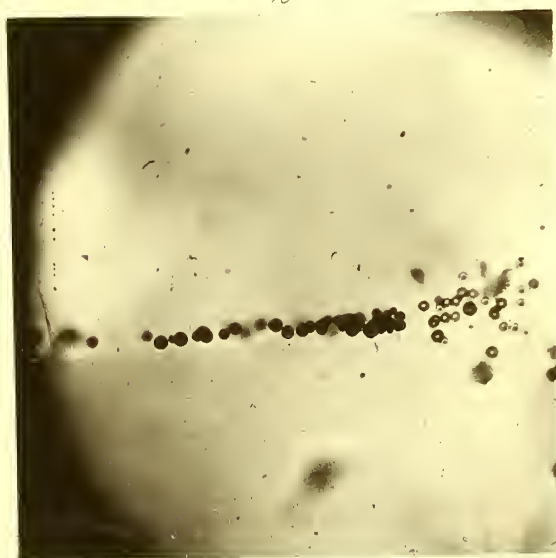
68.



69.



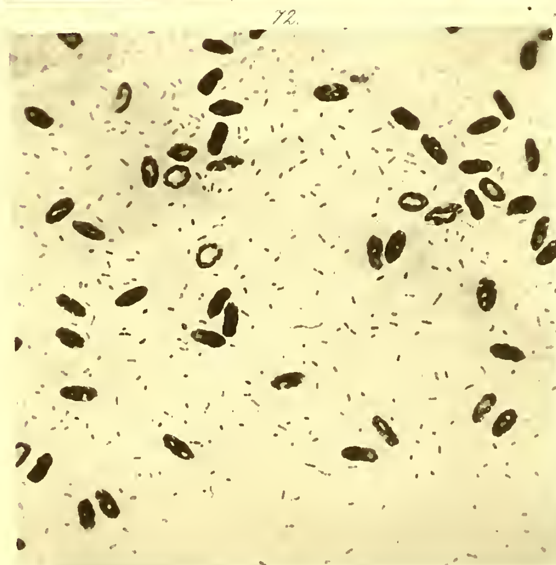
70.



71.



72.



Lichtdruck v. Römmler & Jonas, Dresden.

73.



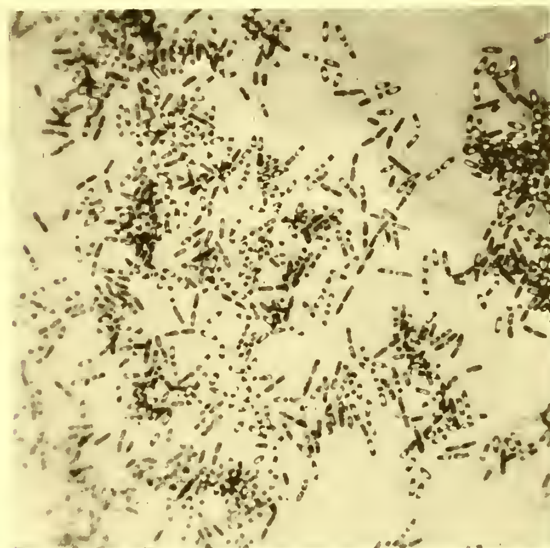
74.



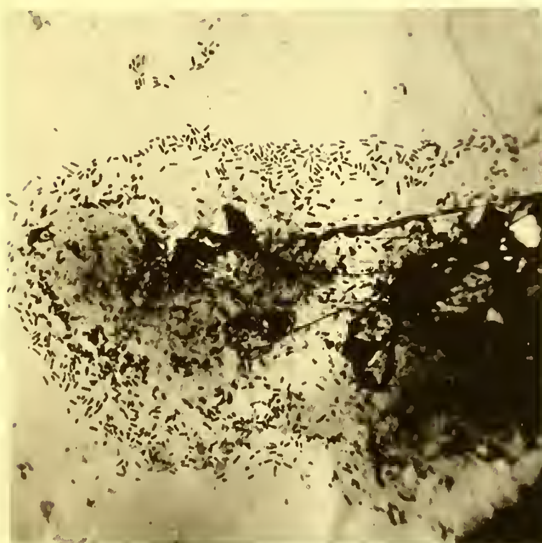
75.



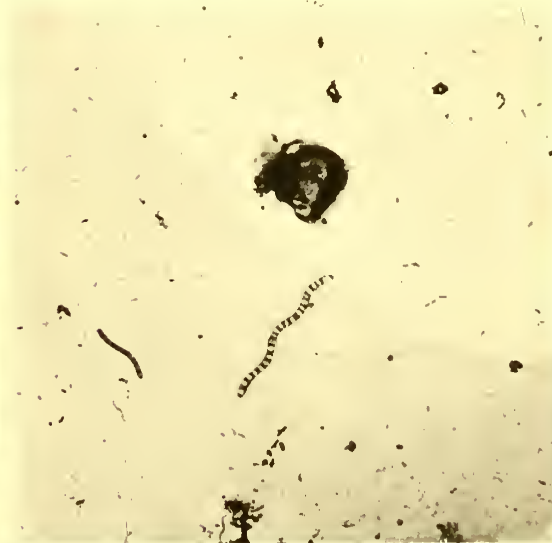
76.



77.



78.

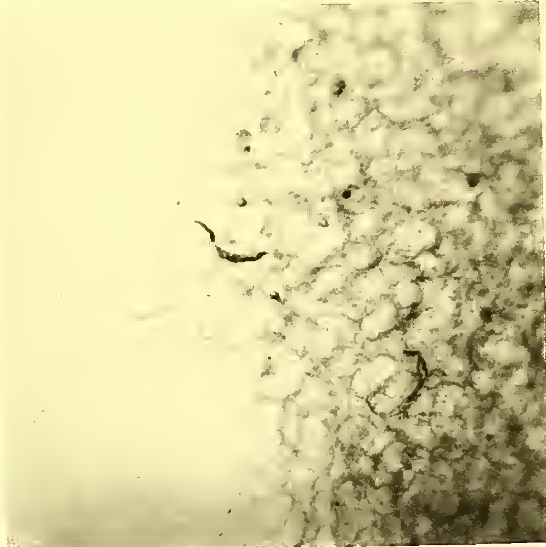


Lichtdruck v. Römmler & Jonas, Dresden.

79.



80.



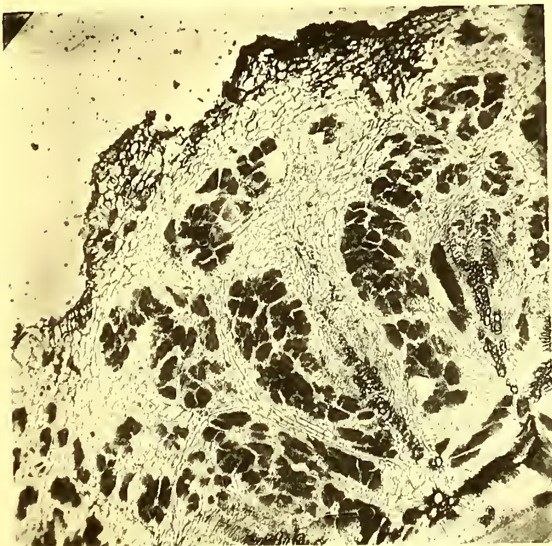
81.



82.



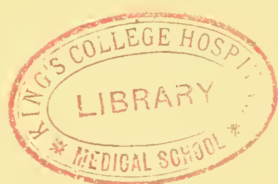
83.



84



Lichtdruck v. Römmler & Jonas, Dresden


KING'S COLLEGE HOSPITAL
LIBRARY
MEDICAL SCHOOL


KING'S COLLEGE HOSPITAL
LIBRARY
MEDICAL SCHOOL